

**Direkte Messungen der Insulinsekretion im
Pankreasvenenblut von Hunden nach
Stimulierung mit Glucose**

Wolfram Böhm

1965

Aus der Abteilung für Klinische Endokrinologie

(Leiter : Prof. Dr. E.F. Pfeiffer)

der I. Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt am Main

(Direktor : Prof. Dr. F. Hoff)

DIREKTE MESSUNGEN DER INSULINSEKRETION IM
PANKREASVENENBLUT VON HUNDEN NACH
STIMULIERUNG MIT GLUCOSE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Wolfram Böhm
aus Breslau

1965

Dekan : Prof. Dr. med. H. Frick

Referent : Prof. Dr. med. E.F. Pfeiffer

Korreferent : Prof. Dr. med. E. Westermann

Mündliche Prüfung : 12. Oktober 1965



Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. <u>Einleitung und Fragestellung</u>	2
B. <u>Material und Methodik</u>	9
1. Versuchstiere	9
2. Operationsmethode	9
3. Insulinbestimmungsmethode	12
4. Blutzuckerbestimmungsmethode	15
C. <u>Versuchsanordnungen</u>	16
D. <u>Ergebnisse</u>	18
1. Insulinmessungen im peripheren Venenblut	18
2. Insulinmessungen im Pankreasvenenblut	18
a) Blutausflüßmengen	20
b) Kontrollversuche	20
c) Erhöhung des Blutzuckerspiegels um das 5 fache	20
d) Erhöhung des Blutzuckerspiegels um das 10 fache	21
3. Gegenüberstellung der 3 Versuchsgruppen	22
a) Vergleich der Insulinsekretion	22
b) Statistische Vergleiche	22
E. <u>Diskussion</u>	
1. Zur Operationsmethode	23
2. Notwendigkeit einer Phlorizinvorbehandlung	27
3. Zum Problem der Insulinbestimmung	28
4. "Gebundenes" und "freies" Insulin	30
5. Besprechung der Ergebnisse	32
a) Einfluß der Stimulation auf den Insu- linspiegel im peripheren Venenblut	32
b) Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren	33
c) Vergleich mit dem Stimulationseffekt nach Tolbutamid	34
d) Beziehungen zwischen Blutzucker, In- sulinsekretion und Zeit	36
F. <u>Zusammenfassung</u>	38
G. <u>Abbildungen 1 - 10 und Tabellen 1 - 3</u>	40
H. <u>Literaturangaben</u>	48
I. <u>Lebenslauf</u>	57
Verzeichnis meiner akademischen Lehrer	58
Ehrenwörtliche Erklärung	61

Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. Einleitung und Fragestellung

=====

Seit mehreren Jahrzehnten weiß man, daß der Organismus die Insulinabgabe dem Bedarf entsprechend durch einen Selbstregulationsmechanismus steuert. Der Traubenzucker ist der physiologische, adaequate Reiz für die Insulinsekretion des Pankreas. Dafür konnte durch eine Vielzahl von Untersuchungen unter den verschiedensten Gesichtspunkten der Beweis erbracht werden, und zwar zum ersten Mal im Jahre 1927 von Grafe und Meythaler. Sie demonstrierten, daß Glucoseinfusionen in die Arteria pancreaticoduodenalis von Hunden eine Hypoglykämie im peripheren Venenblut verursachten, während gleiche Infusionen in die Femoralarterie zu einem Blutzuckeranstieg führten. Die auftretende Hypoglykämie ließ sich nur mit einer vermehrten Insulinausschüttung erklären, die der Blutzuckererhöhung im arteriellen Pankreasblut folgte.

Diese Versuche konnten von Gayet und Guillaumie (1933) sowie Foglia und Fernandez (1936), die die Bauchspeicheldrüse von Hunden in den Nacken transplantierten und die rein humorale Regulation der Insulinsekretion bewiesen, ferner von Brown u.M. (1952) sowie Pozza u.M. (1958) bestätigt werden. In Kreuztransfusionsexperimenten an Hunden beobachteten Zunz und La Barre (1927), Foa, Weinstein und Smith (1949) sowie Pozza u.M. (1958), daß das Pankreasvenenblut hyperglykämischer Spendertiere bei pankreatektomierten Empfängertieren eine Hypoglykämie hervorrief.

Doch man versuchte die nach Glucosegaben vermehrte Insu-

linmobilisierung nicht nur auf dem indirekten Weg über die Hypoglykämie zu erfassen, sondern auch durch histologische Untersuchungen der morphologischen Veränderungen an den Pankreasinseln. Es kann heute als sicher gelten, daß die B-Zellen für die Insulinbildung verantwortlich sind und ihre Granula eine Speicherform des Insulins darstellen. Denn die Granulation der B-Zellen verläuft weitgehend mit dem Insulingehalt des Pankreas parallel (Houssay u.M. (1942), Haist (1944), Barron (1948), Bell (1953), Hartroft und Wrenshall (1955) sowie Pfeiffer u.M. (1957)). Der Grad der Granulation wurde deshalb dazu benutzt, um einen groben Anhalt über den Funktionszustand der Langerhans'schen Inseln zu erhalten. Nach längerer Glucosebelastung wies die meist vollständige Degranulierung der B-Zellen auf eine gesteigerte Insulinausschüttung hin (Barron und State (1949), Brown u.M. (1952), Batts (1959) sowie Volk und Lazarus (1960)). Besser wurde die nach Glucosezufuhr erhöhte sekretorische Aktivität der B-Zellen noch durch eine Vergrößerung ihrer Kernvolumina (Pfeiffer u.M. (1957)) oder ihrer Golgi-Apparate (Batts (1959) sowie Volk und Lazarus (1960)) demonstriert. Als Anpassung der B-Zellen an die geforderte Mehrleistung beobachteten Houssay (1942), Brown u.M. (1952) sowie Haist (1959) eine Hyperplasie der Inselzellen.

Der eindeutigste Beweis für den stimulatorischen Effekt der Glucose auf die B-Zellen wurde durch die Experimente von Dohan und Lukens (1947 und 1948) sowie Brown u.M. (1952) erbracht. Als Zeichen der funktionellen Überbeanspruchung und Erschöpfung durch chronische Hyperglykämie gelang ihnen die Darstellung hydropischer Degeneration der B-Zellen, die sogar bei mehreren Katzen zu einem permanenten, schweren Diabetes mellitus führte.

Doch nicht nur mit diesen funktionellen Experimenten wurde die Stimulationswirkung der Glucose demonstriert,

sondern Bouman und Gaarenstroom (1961) sowie Candela u.M. (1961) fanden, daß Pankreasgewebe auch in vitro nach Inkubation mit Glucose Insulin freisetzt.

Die Frage, ob und welche anderen Zucker außer Glucose die Insulinsekretion anregen, ist noch nicht endgültig geklärt. Aus vergleichenden Untersuchungen nach ihrer eingangs erwähnten Methode mit verschiedenen Kohlenhydraten und ihren Derivaten schlossen Grafe und Meythaler (1928), daß nur die Substanzen die Insulinsekretion stimulieren, die eine Aldehyd- oder Ketogruppe besitzen und reduzierend wirken können. Pozza u.M. (1958) griffen dieses Problem mit einer ähnlichen Versuchsanordnung wieder auf. In der Abbildung 1 sind die wichtigsten der von ihnen geprüften Kohlenhydrate in ihrer Konfiguration und nach ihrer Wirkung dargestellt. Die Fähigkeit zur Stimulierung der Insulinsekretion ist an die Anordnung der Aldehyd- und Hydroxylgruppen am ersten und zweiten C-Atom von Hexosen und Pentosen gebunden. Jedoch konnte der Zusammenhang zwischen der chemischen Struktur verschiedener Kohlenhydrate und ihrem Einfluß auf die Insulinsekretion noch nicht völlig geklärt werden.

Für die von Pozza u.M. (1958) aufgestellte Hypothese, daß nur diejenigen Kohlenhydrate die Insulinsekretion stimulieren, deren Eintritt in die Zellen der insulinabhängigen Gewebe in Anwesenheit des Insulins beschleunigt wird, sprechen auch die Befunde von Grodsky u.M. (1962 und 1963); gesichert ist sie aber nicht, denn noch stehen sich eine Reihe von widersprechenden Resultaten gegenüber. Zum Beispiel fanden beide Arbeitsgruppen, daß D-Xylose und L-Arabinose die Insulinsekretion nicht beeinflussen, während Levine (1961) die Insulinabhängigkeit der Utilisation dieser Zucker beschrieb.

Ebensowenig geklärt sind unsere Vorstellungen über den

Insulinsekretionsmechanismus als solchen. Das Insulin oder möglicherweise eine seiner Vorstufen werden in einer unlöslichen Form in den Sekretgranula der B-Zellen gespeichert. Diese durch Aldehyd-Fuchsin anfärbbaren Granula stellen nach Lazarus und Barden (1961) nicht das Insulin selber, sondern nur seine Hüllsubstanz dar. Bei dieser Bindungsform scheinen Zink (Maske (1957)) und basische Proteine (Lindner (1956)) eine wichtige Rolle zu spielen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen haben gezeigt, daß das Sekretgranulum von dem Blutstrom der Kapillaren durch mindestens fünf Membranen und fünf Zwischenräumen getrennt ist (Lacy und Hartroft (1959)). Wie bewirkt nun der Traubenzucker als Sekretionsreiz den Übertritt des in den Granula gebundenen Insulins in die Blutbahn, und wo setzt seine Wirkung an?

Bis auf einzelne Theorien ist darüber noch sehr wenig bekannt. Williamson u.M. (1961) konnten im Elektronenmikroskop verfolgen, wie der sackartige Behälter des Insulingranulums nach Stimulation mit einem Sulfonilharnstoff oder Glucose zur Zellperipherie wandert, mit der Cytoplasmamembran verschmilzt, und das Granulum in den Extrazellulärraum ausgestoßen wird, wo es sich rasch auflöst. Im Gegensatz dazu vermutete Lazarow (1960), daß Hyperglykämie eine intrazelluläre Auflösung der Depotform des Insulins zur Folge hat, das dann auf unbekanntem Weg ins Blut gelangt.

Pfeiffer u.M. (1957) sind der Ansicht, daß sich der Sekretionsreiz der Sulfonilharnstoffe auf das in lichtmikroskopisch unsichtbarer Form vorliegende Insulin beschränkt und als Sofortreaktion dessen Sekretion verursacht, während die Mobilisation der Insulindepots erst nachfolgt. In einer späteren Reaktion setzt dann die vermehrte Insulinproduktion zum Ersatz des Verlustes ein. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Grodsky und Bennet

(1963). Sie durchströmten isolierte Rattenbauchspeicheldrüsen, blockierten die Proteinsynthese mit Dinitrophenol, maßen das Insulin immunologisch und fanden, daß Glucose völlig unabhängig von der Insulinproduktion die Insulinsekretion durch einen unbekannten Mechanismus direkt beeinflusst.

Mit der von Lazarow (1960) vertretenen Theorie steht folgende Hypothese von Maske (1960) in Einklang: Eine Hyperglykämie verursacht eine Steigerung des Stoffwechsels der Inselzellen. Verschiedene dabei entstehende Metaboliten sollen durch eine komplexe Bindung an Zink in kompetitiver Weise das Insulin in eine gelöste Form überführen und so die Sekretion des Hormons ermöglichen.

Schon bevor es die direkten Insulinbestimmungsmethoden im Blut gab, hatte man versucht, durch funktionelle Studien Näheres über das Ausmaß der Insulinsekretion zu erfahren. Dieses war mit den bereits erwähnten Techniken der Abschätzung der B-Zellen-Granulation und den sehr ungenauen in vivo-Bestimmungen des Insulins im Blute nur in begrenztem Umfang möglich. Denn der Sekretgranulagehalt der B-Zellen und der Insulingehalt des Pankreas geben wenig Aufschluß über die wirkliche Aktivität der Inselzellen, weil beide Größen in gleichem Maße von der Insulinsekretion und seiner Produktion abhängig sind. Werden gleichzeitig die Kernvolumina der B-Zellen als ungefähres Maß der Insulinsynthese bestimmt (Pfeiffer u.M. (1957)), so sind die Aussagemöglichkeiten über eine gesteigerte Aktivität wesentlich verbessert, reichen aber für genaue, quantitative Untersuchungen noch nicht aus.

Das gilt auch für die Verwertung des Insulinspiegels im peripheren Blut. Denn ebenso wie der Pankreasinsulingehalt von der Produktion und Sekretion bestimmt wird, hängt der Blutinsulinspiegel von dem Verhältnis zwischen Sekretion und Beseitigung des Insulins aus dem Kreislauf

ab (Haist (1959)). An dieser Beseitigung sind Utilisation, Abbau und wahrscheinlich eine Bindung in der Leber, renale Ausscheidung und möglicherweise insulinneutralisierende Faktoren im Blut beteiligt. Der Insulingehalt des peripheren Blutes ist also eine Resultante dieser vielfältigen Faktoren, deren Größe im einzelnen nicht abzuschätzen ist. Er kann deshalb kein genaues Bild von der Insulinsekretion geben.

Aus diesem Grunde hat man schon früh versucht, den Insulinspiegel im venösen Pankreasblut zu messen, noch bevor er von den eben genannten Faktoren beeinflusst werden konnte. London und Kotschneff (1937) kanulierten die Pankreasvene von Hunden und entnahmen so Blut nach oraler Glucosezufuhr, das bei Ratten einen Blutzuckerabfall verursachte. In ähnlicher Weise stellten Anderson, Wherry und Bates (1959) nach Glucoseinjektionen einen Anstieg der an alloxandiabetischen, hypophysektomierten Ratten bestimmten Insulinaktivitäten im Pankreasvenenblut von Hunden und Katzen fest.

Ein Wechsel der Insulinwerte im Pankreasvenenblut kann aber nur dann einen gleichen Wechsel in der Insulinsekretion widerspiegeln, wenn die gesamte sezernierte Insulinmenge gemessen wird. Das versuchten Anderson und Long (1947) in ihren Perfusionsversuchen am isolierten Rattenpankreas. Sie bewiesen in klarer Weise den Stimulationseffekt der Hyperglykämie auf die durch einen Blutzuckerabfall an Ratten bestimmte Insulinsekretion.

Bei allen bisher angeführten Versuchen war jedoch nur ein qualitativer Nachweis des Insulins möglich, der zu näheren Studien über den Sekretionsablauf nicht ausreichte. Erst die Entwicklung der direkten Insulinbestimmungsmethoden im Blut mit Hilfe des Zwerchfelles und Fettgewebes von Ratten und die immunologischen

Methoden gaben endlich die Voraussetzung, dieses Problem unter quantitativen Gesichtspunkten anzugehen.

So führten Grodsky u.M. (1962) die Versuche am isolierten Pankreas von Anderson und Long (1947) fort, indem sie die Stimulationswirkung der Glucose mit der anderer Substanzen verglichen. Metz (1960), Egdahl und Goldberg (1962) sowie Seltzer (1962) sammelten mittels eines Katheters in der Pankreasvene von Hunden einen Teil des venösen Blutes der Bauchspeicheldrüse und bestimmten darin die wechselnden Insulinaktivitäten nach einer Blutzuckererhöhung.

Auch wir gingen bei unseren eigenen Versuchen davon aus, den Einfluß der genannten Faktoren auf den Insulinblutspiegel auszuschalten. Wie Metz, Egdahl und Goldberg sowie Seltzer katheterisierten wir die Pankreasvene von Hunden, konnten aber im Gegensatz zu ihnen durch eine besondere Unterbindungstechnik das venöse Blut aus allen Pankreasteilen ableiten. Außerdem gelang es uns, die Versuchszeit wesentlich zu verlängern und dadurch eine viel größere Zahl von Insulinmessungen durchzuführen. Die mit dieser im folgenden ausführlich beschriebenen Technik ermittelte Insulinsekretion spiegelt die Sekretionsaktivität des gesamten Inselorgans wider. Damit waren die Voraussetzungen für die vorliegenden Versuche gegeben.

Es ist das Ziel dieser Arbeit, die Insulinsekretion im Pankreasvenenblut nach einer Stimulation mit Glucose über einen längeren Zeitraum in quantitativer Hinsicht zu beobachten. Das Ausmaß der Sekretionsaktivität der B-Zellen als Antwort auf den jeweiligen Stimulationsreiz soll es ermöglichen, Näheres über das funktionelle Verhalten der B-Zellen zu erfahren. Insbesondere sollen mit diesen Versuchen die beiden folgenden Fragen geprüft werden:

1. Beantworten die B-Zellen eine Stimulation mit verschieden hohen Blutzuckerkonzentrationen mit entsprechenden Sekretionssteigerungen, das heißt besteht eine direkte Relation zwischen Blutzuckerspiegel und Insulinsekretion?
2. Sind die B-Zellen bei anhaltendem, sehr hohen Blutzuckerspiegel in der Lage, ihre erhöhte Sekretionsaktivität über eine längere Zeit unverändert aufrechtzuerhalten, oder ändert sich die Situation mit der Dauer der Stimulierung?

B. Material und Methodik

=====

1. Versuchstiere:

Als Versuchstiere dienten 17 - 28 kg schwere Hunde beiderlei Geschlechtes und verschiedener Rassen. Sie wurden 24 Stunden vor dem Operationsbeginn nüchtern gehalten.

Die Anästhesie wurde mit dem Barbiturat Nembutal intravenös durchgeführt. Je nach seiner unterschiedlichen Wirkung bei den einzelnen Tieren schwankte die Dosierung zwischen 20 und 35 mg/kg Körpergewicht. Um eine gleichmäßig tiefe Anästhesie aufrechtzuerhalten, wurden 1 - 3 stündlich Dosen von 2 - 5 mg Nembutal/kg Körpergewicht intravenös injiziert.

2. Operationsmethode:

Zu Beginn der Operation wurde die rechte Vena jugularis externa katheterisiert. Ein Polyvinylchlorid (PVC) - Katheter mit dem inneren und äußeren Durchmesser von 2 bzw. 3 mm wurde von der Vena jugularis externa mindestens 20 cm weit bis in die Vena cava superior vorgeschoben. Auf diese Weise war es möglich, Proben peripheren Venen-

blutes in beliebiger Menge und Zahl zu entnehmen und jederzeit intravenöse Injektionen, Infusionen und Bluttransfusionen durchzuführen.

Die Laparotomie wurde durch einen Mittelschnitt vom processus xiphoideus bis möglichst weit nach kaudal ausgeführt. Aus räumlichen Gründen und um eine größere Blutspeicherung in der Milz nach der Unterbindung der Vena lienalis zu verhindern, wurde die Milz exstirpiert.

Nun wurden die Bauchspeicheldrüse und alle pankreasblutführenden Venen aufgesucht, die in der Abbildung 2 veranschaulicht werden:

1. Vena lienalis, die mit zahlreichen Gefäßverbindungen vom Pankreaskörper und -schwanz die Hauptblutmenge aus diesen Teilen aufnimmt und von dorsal her mit der Vena mesenterica superior die Vena portae bildet,
2. Vena gastrica dextra, die durch Anastomosen über die Vena gastroepiploica dextra Pankreasblut ableiten kann und proximal von der Vena lienalis in die Vena portae mündet,
3. Vena pancreaticoduodenalis, die gemeinsam mit der Vena gastroepiploica dextra zwischen den beiden ersten in die Vena portae mündet, den Pankreaskopf drainiert und über die Vena gastroepiploica dextra Blut vom Pankreaskörper führt. Diese Venen wurden an ihrer Einmündung in die Pfortader freipräpariert und angeschlungen, aber noch nicht ligiert, um einen Blutstau im Pankreas zu verhindern,
4. Vena gastroepiploica sinistra, die nach Unterbindung der Vena lienalis von dieser Pankreasblut über die Magen Anastomosen ableiten kann,
5. Vena processus uncinati pancreatis, die in die Vena mesenterica einmündet. Beide Venen wurden unterbunden. Ferner wurden alle kleineren Venen vom Pankreas zum Duodenum und zur Vena mesenterica superior sorgfältig

ligiert. Bei allen Ligaturen mußte darauf geachtet werden, daß die zugehörigen Arterien nicht mit unterbunden wurden, so daß der Blutzufuß zum Pankreas voll erhalten blieb.

Jetzt erfolgte die Katheterisierung der Vena pancreaticoduodenalis. Dazu wurde die Duodenumschlinge nach außen herumgeklappt und die Vene in ihrem regelmäßig im Mesenterium zwischen Duodenum und Pankreaskopf bzw. processus uncinatus verlaufenden Teil einige Zentimeter freipräpariert. Ein mit Heparinlösung gefüllter PVC-Katheter mit dem inneren und äußeren Durchmesser von 1,7 bzw. 2,3 mm wurde 1 - 2 cm in das Gefäß vorgeschoben und am Duodenum fixiert. Während der Katheterisierung wurden den Tieren 2000 - 3000 Einheiten Heparin injiziert. Das Pankreasblut konnte nun in retrograder Richtung aus der Vena pancreaticoduodenalis ausfließen und in eine Flasche geleitet werden. Die Ligaturen 1 - 3 wurden geschlossen.

Als Ersatz für den kontinuierlichen Blutverlust wurde während der gesamten Versuchsdauer dieselbe Menge normalen Hundeblutes transfundiert. Zur Gewinnung dieser Hundeblutkonserven wurden Hunde unter Nembutalnarkose durch einen Katheter, der von der Vena jugularis externa bis in die Vena cava superior vorgeschoben wurde, ausgeblutet. Das Blut wurde in Vakuumflaschen mit ACD-Stabilisatorlösung (Fa. B. Braun, Melsungen) geleitet und, falls es nicht sofort Verwendung fand, bei + 4° Celsius bis zu 10 Tagen aufbewahrt. Da die ACD-Lösung Glucose enthält, wurde sie bei den Kontrollversuchen durch Natrium citricum (3,8%) ersetzt. Bei keiner der durchgeführten Kreuzproben wurden Unverträglichkeitsreaktionen zwischen dem Blut verschiedener Hunde festgestellt.

Der Blutausfluß aus dem Pankreas wurde bei allen Versuchen durch Veränderungen der einlaufenden Bluttrans-

fusionsmengen und der Höhe der Ausflußflasche möglichst im Bereich zwischen 6 und 15 ml/min gehalten.

Zwischen den einzelnen Pankreasabschnitten sind Gefäß-anastomososen reichlich ausgebildet. Deshalb konnte mit dieser Präparation das gesamte Pankreasvenenblut gesammelt und der physiologische Abfluß in den Körperkreislauf nahezu vollständig verhindert werden.

Zur Sicherung des Operationserfolges wurde nach Beendigung der einzelnen Versuche eine Evans-Blau-Lösung retrograd in den Katheter injiziert und die Anfärbung des Pankreasgewebes nachgeprüft (Abbildung 3).

3. Insulinbestimmungsmethode:

Die Insulinbestimmungen wurden mit Hilfe der Oxydation radioaktiver 1-C^{14} -Glucose durch das isolierte epididymale Rattenfettgewebe nach der von Martin u.M. (1958) beschriebenen und von Ditschuneit u.M. (1962) verbesserten Methode durchgeführt. Sie wird im folgenden beschrieben.

Die Blutproben aus dem Pankreas- und dem peripheren Venenblut wurden sofort nach der Entnahme zentrifugiert, das Serum abpipettiert und eingefroren. Für eine Doppelbestimmung einer Blutprobe werden 2,0 ml Serum benötigt. Die einzelnen Proben eines Hundes wurden in der Regel zusammen in einem Versuchssatz und möglichst alle am selben Tag bestimmt. Jeder Versuchssatz besteht aus 12 Inkubationsgläschen für 6 Doppelbestimmungen. Zwei Doppelbestimmungen eines Satzes werden zur Berechnung der unbekannten Serum-Insulin-Wirkungen mit 62,5 und 1000 $\mu\text{E/ml}$ mehrfach umkristallisierten, glucagonfreien Schweine-Insulins in Krebs-Ringer-Pufferlösung durchgeführt und die übrigen 4 mit den zu untersuchenden Seren. Die Seren werden mit Krebs-Ringer-Pufferlösung, die auf einen pH von 7,4 eingestellt und mit einem Gelatinezu-

satz versehen wurde, im Verhältnis 1:2 verdünnt. Ihr Glucosegehalt wurde vorher auf 250 mg% eingestellt, nachdem die Seren über Nacht dialysiert worden waren. Zu jedem Inkubationsansatz von 1,9 ml pipettiert man 0,1 ml einer an C₁ markierten C¹⁴-Glucose mit einer Gesamtaktivität von 0,04 μ C (Radiochemical Centre, Amersham, Buckinghamshire, England).

Ungefähr 150 g schwere Albino-Ratten aus der Zucht Ivanovas, Kisslegg/Allgäu, die bis zum Versuchsbeginn ad libidum gefüttert wurden, werden durch Nackenschlag getötet und entblutet. Von dem epididymalen Fettanhang jeder Seite schneidet man vorsichtig 3 Zipfel von je etwa 40 - 50 mg ab. In jedes Gläschen mit der beschriebenen Inkubationsflüssigkeit werden 3 Zipfel von 3 verschiedenen Ratten gelegt. Jeweils 2 Gläschen mit den bekannten Insulinkonzentrationen und 4 Gläschen mit den zu testenden Seren erhalten die Fettzipfel von 3 Tieren. Für einen Versuchssatz benötigt man also 6 Ratten. Die Gläschen werden vor und nach Zugabe der Fettzipfel gewogen und 2 1/2 Stunden in einem Schüttelwasserbad inkubiert.

Vor der Inkubation wurde jedes Gläschen 2 Minuten lang mit Oxycarbon (95% O₂, 5% CO₂) durchströmt. Nach der Inkubation wird 0,2 ml n/Schwefelsäure durch eine besondere Verschlussvorrichtung hineingespritzt, ohne daß die Gläschen dabei geöffnet werden. Zur Adsorption des sich daraufhin entwickelnden C¹⁴O₂ spritzt man in toluolbeständige Kunststoffnöpfe, die im Innern der Gläschen befestigt sind, 0,02 Mol Hyamin-Hydroxyd in Methanol. Nach 90 Minuten werden sie in mit 10,0 ml Szintillationsflüssigkeit und 2,0 ml Alkohol (95%) gefüllte Schraubgläser geworfen. Als Szintillator dient Diphe-

Für die Bereitstellung des mehrfach umkristallisierten, glucagonfreien Insulins sowie für die großzügige Unterstützung bei der Durchführung dieser Untersuchungen sei Herrn Dr. R. Müller, Pharmazeutische Abteilung der Farbwerke Hoechst, gedankt.

nyloxazol (0,4%) und Phenylloxazoly-Benzol (0,2%) in Toluol. Die Zählung der in den einzelnen Proben enthaltenen Radioaktivität (Impulse/min) des $C^{14}O_2$ erfolgt mit dem halbautomatischen Flüssigkeitsszintillationszähler LSC - 10 B von Tracerlab/USA.

Die Wirkungen der unbekannten Insulinmengen in den Probeseren auf die Glucoseoxydation des Fettgewebes werden nun mit dem Stoffwechseleffekt der Pufferlösungen mit den bekannten Insulinkonzentrationen von 62,5 und 1000 $\mu E/ml$ verglichen.

Zwischen dem Logarithmus der Insulinkonzentration im Bereich von 62,5 bis 1000 $\mu E/ml$ und der Quadratwurzel aus den gemessenen und auf mg Fettgewicht bezogenen Impulszahlen besteht eine exponentielle Abhängigkeit mit linearer Regression, so daß eine Eichkurve aufgestellt werden kann. Die unbekannten Serum-Insulin-Wirkungen können aber nicht an einer allgemein gültigen Eichkurve abgelesen werden, sondern diese muß für jeweils 4 zu testende Seren mit dem Fettgewebe derselben Ratten neu bestimmt werden.

Bei dieser Versuchsanordnung beträgt der mittlere Regressionskoeffizient der einzelnen Geraden $2,18 \pm 1,05$ und der Genauigkeitsindex λ , der ein Maß für die Fehlerbreite darstellt, $0,15 \pm 0,08$ (Ditschuneit u.M. (1962))).

Alle Seren wurden doppelt, zum Teil vierfach bestimmt, aus den gefundenen Impulszahlen die Mittelwerte gebildet und an den zugehörigen Eichkurven die gesuchten Serum-Insulin-Wirkungen abgelesen. Die gefundenen Werte wurden mit dem Faktor 2 multipliziert, da gezeigt werden konnte, daß sich die Serum-Insulin-Wirkungen nach einer 1:2 Verdünnung der Seren bei normalen Individuen um die Hälfte verringern und lediglich bei Diabetikern durch Verdünnung höher als die im voraus be-

berechneten Werte zu messen sind (Pfeiffer u.M. (1959 - a,b), Renold u.M. (1960), Sheps u.M. (1960) sowie Ditschuneit (1964)).

Die Insulinsekretion (mE/min) wurde durch Multiplikation der einzelnen Serum-Insulin-Wirkungen (μ E/ml) mit den entsprechenden Blutausflusssmengen (ml/min) errechnet.

4. Blutzuckerbestimmungsmethode:

Die Blutzuckerbestimmungen wurden nach der enzymatischen Bestimmungsmethode der "wahren Glucose" von Huggett und Nixon (1956) unter Verwendung der Biochemica Test Kombination von C.F.Boehringer und Söhne, GmbH, Mannheim, durchgeführt.

Das Prinzip der Methode ist folgendes:

Das Enzym Glucoseoxydase katalysiert die Oxydation der Glucose; dabei bildet sich Wasserstoffperoxyd. Dieses oxydiert unter enzymatischer Katalyse durch Peroxydase den Wasserstoffdonator o-Dianisidin, der in einen braunen Farbstoff übergeht und kolometriert werden kann. Da die Reaktionen quantitativ ablaufen und die Glucoseoxydase spezifisch auf D-Glucose eingestellt ist, ist die Menge des gebildeten Farbstoffes ein Maß für die umgesetzte Glucosemenge.

Sofort nach der Entnahme werden jeweils 0,1 ml Blut zur Enteiweißung in Röhrchen mit 1,0 ml Perchlorsäure (3,3%) pipettiert und 5 - 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert.

Zu jedem Versuchsansatz werden in je ein Reagenzglas nacheinander pipettiert:

Reagenzien-Leerwert:	5,0 ml Glucose-Reagenz
	0,2 ml bidestilliertes Wasser
Glucose-Standardwert:	5,0 ml Glucose-Reagenz
	0,2 ml Glucose-Standardlösung
unbekannte Proben:	5,0 ml Glucose-Reagenz
	0,2 Überstand der enteiweißten Probe

Das Glucose-Reagenz besteht aus dem
Puffer-Enzym-Gemisch:

2,07 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ + 1,09 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ +
0,006 g Peroxydase + 0,038 g Glucoseoxydase +
Aqua bidest. ad 150,0 ml

und der Chromogenlösung:

10,0 mg o-Dianisidinhydrochlorid + Aqua bidest.
ad 2,0 ml.

Beide Anteile werden im Verhältnis 100:1 gemischt.
Die Glucose-Standardlösung enthält 100,0 mg Glucose
+ 25,0 ml Perchlorsäure + Aqua bidest. ad 1000,0 ml.
Diese Ansätze bleiben 35 min bei Zimmertemperatur
stehen.

Die Extinktionsdifferenzen zwischen den Proben bzw.
dem Glucose-Standardwert und dem Reagenzien-Leerwert
werden nun in 10 mm Küvetten bei 436 $\text{m}\mu$ im Eppendorf-
Photometer gemessen.

Der Glucose-Standardwert enthält 1,0 mg Glucose/ml
Blut. Die Extinktionsdifferenzen der Proben dividiert
durch die Extinktionsdifferenz des Standards ergeben
nach Multiplikation mit 100 die Glucosekonzentration
der Blutproben in mg%.

C. Versuchsanordnungen

=====

Die einzelnen Versuche wurden in drei Gruppen durch-
geführt:

In der Versuchsgruppe I wurde der Blutzuckerspiegel
bei 5 Hunden innerhalb weniger Minuten durch eine In-
jektion von 0,6 g Glucose/kg Körpergewicht um das 5
fache auf etwa 300 mg% erhöht. In der Versuchsgruppe II
folgte bei 5 anderen Hunden einer Injektion von 1,2 g
Glucose/kg Körpergewicht ein 10 facher Anstieg des

Blutzuckerspiegels auf etwa 600 mg%. In der ersten Gruppe wurde eine 20%ige, in der zweiten eine 40%ige Glucoselösung injiziert. Die zugeführte Flüssigkeitsmenge war also in beiden Gruppen gleich groß.

Um ein Absinken dieser stark erhöhten Blutzuckerspiegel zu verhindern, mußte während der ganzen Versuchsdauer kontinuierlich Glucose infundiert werden, deren Menge von Zeit zu Zeit immer mehr gedrosselt wurde. So erhielten die Tiere der Gruppe I innerhalb der ersten Stunde etwa 0,8 g Glucose/kg/Stunde und während der weiteren Versuchsdauer etwa 0,3 g Glucose/kg/Stunde. In der Gruppe II betrugen die entsprechenden Werte 2,5 g/kg/Stunde und 0,9 g/kg/Stunde. Als Kontrollversuche wurden in der Versuchsgruppe 0 bei 6 weiteren Hunden anstelle der Glucoselösungen dieselben Mengen physiologischer Kochsalzlösung injiziert.

Die Blutproben wurden vor und nach den Glucose- bzw. Kochsalzinjektionen in bestimmten, aus den Tabellen ersichtlichen Zeitabständen (bis zu 180 Minuten nach den Injektionen) dem ausfließenden Pankreasvenenblut und dem peripheren Venenblut durch den Katheter in der Vena cava superior entnommen. Das Pankreasvenenblut wurde während der Entnahmen direkt aus dem Katheter in graduierte Röhrchen geleitet und die Einlaufzeit gestoppt. Die pro Zeiteinheit ausfließenden Blutmengen wurden in ml/min angegeben.

Von jeder Blutprobe wurde sofort nach der Entnahme die Blutzuckerkonzentration bestimmt, das Serum abzentrifugiert und bis zur Insulinbestimmung bei -20°C eingefroren.

D. Ergebnisse

=====

1. Insulinmessungen im peripheren Venenblut:

Zunächst musste kontrolliert werden, ob der physiologische Abfluß des Pankreasblutes in den Körperkreislauf durch die geschilderte Operationsmethode unterbunden werden konnte. Dazu wurden bei den 10 Versuchen der Gruppen I und II einzelne Insulinbestimmungen im peripheren Venenblut durchgeführt. Abbildung 4 zeigt die Mittelwerte der gefundenen Serum-Insulin-Wirkungen. Diese Ergebnisse zeigen, daß keine nennenswerten Insulinmengen mehr in die Peripherie gelangen konnten. Denn nur 80 und 120 min nach den Glucoseinjektionen wurde ein geringer, nichtsignifikanter Anstieg der mittleren Serum-Insulin-Wirkungen beobachtet. Diese beiden Werte betrugen $580 \pm 150 \mu\text{E/ml}$ und $530 \pm 120 \mu\text{E/ml}$ gegenüber dem Nullwert von $360 \pm 80 \mu\text{E/ml}$.

2. Insulinmessungen im Pankreasvenenblut

Im Gegensatz dazu stieg die Insulinsekretion im Pankreasvenenblut nach den Glucoseinjektionen signifikant an. Während der ganzen Versuchsdauer lagen die Mittelwerte im Pankreasvenenblut der 10 Hunde signifikant über den entsprechenden Werten im peripheren Venenblut.

Dementsprechend ergab ein Vergleich der sich zeitlich entsprechenden Einzelmessungen bis auf ganz wenige Ausnahmen stets höhere Insulinwerte im Pankreasvenenblut. Das wird am Beispiel eines Versuches in der Abbildung 5 veranschaulicht.

Hier blieben die Serum-Insulin-Wirkungen im peripheren Venenblut nach der Glukoseinjektion bis auf den Wert nach 80 min im Ausgangsbereich und bewegten sich zwischen 70 und $180 \mu\text{E/ml}$. Im Pankreasvenenblut stiegen sie jedoch stark auf Werte zwischen 380 und $600 \mu\text{E/ml}$ an.

Die einzelnen Ergebnisse der Bestimmungen im Pankreas-
venenblut und die errechneten Insulinsekretionsmengen
sind in den Tabellen 1 - 3 für die Versuchsgruppen 0, I
und II zusammengestellt.

Die Einzelwerte aller Versuche der betreffenden Gruppe
wurden zeitlich geordnet und die Mittelwerte errechnet.
Der Berechnung der Standardabweichungen (σ) wurde fol-
gende Formel zugrunde gelegt:

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum x^2 - M \cdot \sum x}{n - 1}}$$

x = Einzelwerte

M = Mittelwert der Einzelwerte

n = Gesamtzahl der Einzelwerte

Berechnung der Standardabweichungen der Mittelwerte
(σ_m):

$$\sigma_m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Ferner wurde die Signifikanz der Differenz zwischen
den einzelnen Mittelwerten nach den Injektionen und
dem der zugehörigen Nullwerte berechnet. Hierzu wurde
der t-Wert der Verteilung nach Student (1908) errechnet:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{S}$$

$$S = \sqrt{\frac{\sigma_{1,2}^2}{n_1} + \frac{\sigma_{1,2}^2}{n_2}}$$

$$\sigma_{1,2} = \frac{\sigma_1^2(n_1 - 1) + \sigma_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}$$

M_1, M_2 = Mittelwerte der beiden Einzelwertreihen

$\sigma_{1,2}$ = Standardabweichung der Mittelwerte

n_1, n_2 = Gesamtzahl der Einzelwerte jeder Reihe

Die Signifikanzschranke für p unter dem Freiheitsgrad $n_1 + n_2 - 2$ wurde den Wissenschaftlichen Tabellen, Geigy (1960) entnommen. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Mittelwerten, wenn $p < 0,05$ ist.

a) Blutausflussmengen

Die zur Errechnung der Insulinsekretion notwendigen, aus dem Katheter ausfließenden Blutmengen betrugen vor der Injektion der Glucose- bzw. physiologischen Kochsalzlösung im Durchschnitt 7,5 - 19,4 ml/min. 5 min nach der intravenösen Injektion stiegen die Mittelwerte des Blutausflusses auf 8,3 - 24,9 ml/min, erreichten aber nach 10 bzw. 20 min wieder das Ausgangsniveau. Im weiteren Versuchsverlauf bewegten sie sich zwischen 6,0 und 15,0 ml/min. Die einzelnen Werte und die Standardabweichungen sind aus den Tabellen 1 - 3 in den Spalten 2 ersichtlich.

b) Kontrollversuche

In der Kontrollgruppe 0 (Tabelle 1) schwankte die mittlere Blutzuckerkonzentration bis 150 min nach Injektion der physiologischen Kochsalzlösung nur geringfügig zwischen 55 ± 2 und 67 ± 11 mg% um den Leerwert von 60 ± 4 mg% (Spalte 1).

Die Insulinbestimmungen der Seren derselben Proben des Pankreasvenenblutes ergaben einen geringen, nichtsignifikanten Anstieg ($p < 1 - p < 0,2$) der Mittelwerte der Serum-Insulin-Wirkungen (Spalte 3). Nach dem Nullwert von 560 ± 70 μ E/ml bewegten sie sich zwischen 500 ± 100 und 800 ± 20 μ E/ml. Die einzelnen Insulinwerte dieser 6 Versuche werden in der Abbildung 6 veranschaulicht.

c) Erhöhung des Blutzuckerspiegels um das 5 fache

In den 5 Versuchen der Gruppe I (Tabelle 2) wurde der Blutzuckerspiegel im Pankreasvenenblut durch die Glu-

Glucoseinjektion 5 min später im Durchschnitt von $51,2 \pm 6,9$ mg% auf 312 ± 28 mg% erhöht und fiel wegen der kontinuierlichen Glucoseinfusion nur allmählich auf 195 ± 16 mg% nach 150 min ab (Spalte 1). Er blieb jedoch während der ganzen Versuchsdauer signifikant über dem Ausgangswert ($p < 0,01$ - $p < 0,001$).

Die mittlere Serum-Insulin-Wirkung war gegenüber dem Nullwert von 460 ± 170 μ E/ml erst 20 min nach der Glucoseinjektion deutlich erhöht, erreichte nach 100 min den höchsten Wert von 1670 ± 670 μ E/ml und fiel nach 180 min mit 550 ± 250 μ E/ml in den Ausgangsbereich zurück (Spalte 3).

Der Mittelwert der Insulinsekretion betrug vor der Injektion $3,66 \pm 1,4$ mE/min. Die Maximalwerte lagen 60 und 100 min danach mit $11,3 \pm 2,1$ und $13,2 \pm 4,1$ mE/min signifikant ($p < 0,05$) darüber (Spalte 4). Abbildung 7 stellt die Insulinsekretionswerte der einzelnen Versuche graphisch dar.

d) Erhöhung des Blutzuckerspiegels um das 10 fache
In der Gruppe II (Tabelle 3) stieg die mittlere Blutzuckerkonzentration von $71 \pm 13,5$ mg% 10 min nach der Glucoseinjektion auf 640 ± 70 mg%, fiel infolge der sofort anschließenden Glucoseinfusion nach 20 min nur auf 626 ± 41 mg%, wurde danach langsam auf 771 ± 131 mg% nach 100 min erhöht und konnte während der weiteren Versuchsdauer etwa auf diesem Niveau gehalten werden (Spalte 1).

Die Nullwerte der in Spalte 3 aufgeführten Serum-Insulin-Wirkungen ergaben ein Mittel von 350 ± 130 μ E/ml. Nach der Glucoseinjektion stieg der Insulingehalt rasch an und erreichte nach 40 min 3850 ± 1500 μ E/ml.

Der Mittelwert der errechneten Insulinsekretionsmengen

lag bereits 5 min nach der etwa 10 fachen Blutzuckererhöhung mit $21,3 \pm 8,0$ wesentlich über dem Normalwert von $6,5 \pm 2,1$ mE/min und war schon nach 10 min mit $27,2 \pm 10,7$ signifikant erhöht ($p < 0,05$). Nach 40 min erreichte die mittlere Insulinsekretion den Höchstwert von $36,4 \pm 16,9$ mE/min, aber noch nach 140 min wurde mit $17,9 \pm 6,4$ mE/min ein signifikanter Anstieg ($p < 0,05$) errechnet (Spalte 4). Die Einzelwerte dieser 5 Versuche sind in der Abbildung 8 dargestellt.

3. Gegenüberstellung der Versuchsgruppen:

a) Vergleich der Insulinsekretion

In der Abbildung 9 sind die Mittelwerte der Blutzuckerkonzentration und der Insulinsekretion zusammenfassend dargestellt. Bei gleichbleibendem Blutzuckerspiegel in der Kontrollgruppe 0 stiegen die Insulinwerte nur geringfügig von 560 ± 70 auf 800 ± 20 μ E/ml an. Nach der etwa 5 fachen Erhöhung des Blutzuckerspiegels in der Gruppe I erfolgte nicht nur ein wesentlich geringerer, sondern auch langsamerer Anstieg der Insulinsekretion als nach der etwa 10 fachen Erhöhung des Blutzuckerspiegels in der Gruppe II. Im ersten Fall wurden die höchsten Werte von $11,3 \pm 2,1$ und $13,2 \pm 4,1$ mE/min erst nach 60 bzw. 100 min erreicht, während im letzteren die höchsten Anstiege der Insulinsekretion auf $27,2 \pm 10,7$ und $36,4 \pm 16,9$ mE/min bereits nach 10 bzw. 40 min gemessen wurden. Danach sank die Insulinsekretion deutlich ab, obwohl der Blutzuckerspiegel noch weiter erhöht wurde.

b) Statistische Vergleiche

Das unterschiedlich starke Ansteigen der Insulinsekretion unter dem Stimulationsreiz der verschiedenen Blutzuckerkonzentrationen wird aus den folgenden statistischen Vergleichen besonders deutlich: Von den 36 Einzelwerten der Gruppe I lagen 17 signifikant über den entsprechenden Mittelwerten der Kontrollgruppe 0.

Zwischen 20 - 120 min nach der Glucoseinjektion lagen die Mittelwerte der Gruppe I signifikant über den entsprechenden der Gruppe 0.

Von den 44 Einzelwerten der Gruppe II lagen 24 signifikant über den entsprechenden Mittelwerten der Gruppe I. Die Mittelwerte der Gruppe II waren zwischen 10 - 150 min bzw. zwischen 5 - 60 min nach der Glucoseinjektion von denen der Kontrollgruppe bzw. der Gruppe I signifikant unterschiedlich.

Die Kontrollgruppe stellte die normale Insulinsekretion unter den vorliegenden Versuchsbedingungen dar. Abbildung 9 und die soeben dargestellten Ergebnisse zeigen, daß die Insulinsekretion in der Gruppe I eindeutig darüber lag und in der Gruppe II noch eine wesentliche Steigerung erfuhr.

E. Diskussion =====

1. Zur Operationsmethode

Das Problem, die Insulinsekretion aus der Bauchspeicheldrüse quantitativ zu erfassen, ist in den Versuchen von Metz (1960) erfolgreich angegangen worden. Seine Technik übernahm Seltzer (1962). Durch einen Katheter in der Vena pancreaticoduodenalis konnten sie vor und bis 30 min nach der Injektion von Glucose oder anderen stimulierenden Substanzen kontinuierlich venöses Pankreasblut sammeln. Sie maßen dessen Ausfluß und errechneten die Insulinsekretion. Egdahl und Goldberg (1962) beschrieben eine ähnliche Methode, die es ihnen ebenfalls durch eine Katheterisierung der Pankreasvene ermöglichte, einzelne Blutproben vor und nach einer Glucoseinjektion zu gewinnen.

Die bei diesen Versuchen an Hunden gemessene Insulinsekretion ist aber in keiner Weise mit der Sekretion der gesamten Bauchspeicheldrüse identisch. Denn diese wird physiologischerweise von mehreren Venen drainiert (Abbildung 2). Durch die Vena pancreaticoduodenalis konnte nur das Blut aus dem Kopfteil des Pankreas erfaßt werden, der mengenmäßig etwa ein Drittel des ganzen Organs darstellt. Ferner sind die Langerhans'schen Inseln auch im Gewebe des Hundepankreas nicht gleichmäßig verteilt, sondern ihre Zahl nimmt von dem der Milz nahegelegenen Schwanzteil zum Pankreaskopf hin beträchtlich ab. (Haist (1944) stellte im Pankreasschwanz einen doppelt so hohen Insulingehalt als im Kopfbereich fest. Den Haist'schen Ausführungen folgend darf angenommen werden, daß die genannten Autoren nur etwa ein Viertel des insgesamt sezernierten Insulins erfassen konnten. Hinzukommt, daß der Anteil des von der Vena pancreaticoduodenalis versorgten Pankreasgewebes von Tier zu Tier verschieden ist. Diese Voraussetzungen erschweren einen Vergleich der Ergebnisse von verschiedenen Versuchstieren sehr.

Unsere Technik, die von Pfeiffer (1961) sowie Müller-Ruchholtz u.M. (1962) beschrieben wurde, hat folgende Vorteile:

I. Mit ihr konnte das Blut aus allen Pankreasteilen, auch aus dem an B-Zellen reichsten Schwanzteil, gesammelt werden. Im Gegensatz zu Seltzer (persönliche Mitteilung), der diese Möglichkeit bestreitet, ist es uns gelungen, mit der beschriebenen Operationsmethode den physiologischen venösen Abfluß der Bauchspeicheldrüse vollständig zu unterbinden und das Blut durch einen Katheter in der Vena pancreaticoduodenalis abzuleiten. Hierfür sprechen folgende Tatsachen:

- a) Wurde der Katheter verschlossen, so trat nach wenigen Minuten ein Blutstau in allen Pankreas-

teilen auf, der nach dem Öffnen bald wieder vollständig verschwand.

- b) Durch retrograde Injektionen einer Evans-Blau-Lösung in den Katheter konnte das gesamte Pankreasgewebe angefärbt werden, wie es die Abbildung 3 deutlich zeigt. Nur in seltenen Ausnahmefällen unterblieb eine stärkere Blaufärbung der Schwanzspitze.
- c) Die nach der Stimulation mit Glucose stark erhöhte Insulinsekretion in die Pankreasvene hatte keinen Einfluß auf die Insulinwerte in der Peripherie, wie Abbildung 4 zeigt.

Zwischen den einzelnen Pankreasabschnitten mit verschiedenem venösen Abfluß müssen demnach Anastomosen vorhanden sein. Diese erweiterten sich unter den gegebenen Versuchsbedingungen, so daß das an seinem natürlichen Abfluß gehinderte Pankreasblut aus allen Teilen über die Vena pancreaticoduodenalis praktisch unverdünnt abgeleitet werden konnte. Auch in der menschlichen Bauchspeicheldrüse sind gut entwickelte Anastomosen bekannt (persönliche Mitteilung von Herrn Prof. Frick, Anatomisches Institut der Universität Frankfurt).

II. Ein weiterer wesentlicher Vorteil unserer Methode der vollständigen Unterbindung der Pankreasvenen ist der, daß eine Summation des Insulins im peripheren Blut nach stimulierter Sekretion nicht mehr möglich war. Eine Rezirkulation variabler Insulinmengen konnte das Meßergebnis nicht beeinflussen. Nur das jeweils frisch sezernierte Insulin wurde gemessen und spiegelte die wechselnde Aktivität des gesamten Inselorgans wider.

III. Das während der Dauer der vorliegenden Versuche als Ersatz für das abfließende Pankreasblut kontinuier-

lich transfundierte Hundeblut verhinderte ein schnelles Verbluten der Tiere. So konnten die Versuche im Gegensatz zu denen der genannten Autoren über einen wesentlich längeren Zeitraum, bis zu drei Stunden und darüber hinaus, ausgedehnt werden.

In den Versuchen von Seltzer sowie Metz lagen die mittleren, nur aus dem Pankreaskopf abgeleiteten Blutmengen bei 8 bzw. 10 ml/min. Sie waren im Vergleich zu unseren Blutausflußmengen, die sich im Durchschnitt zwischen 6 und 15 ml/min bewegten, deshalb recht groß, weil ihnen noch venöses Dünndarmblut beigemischt war. Denn die Vena pancreaticoduodenalis nimmt, wie ihr Name sagt, in ihrem Verlauf entlang der Duodenalschlinge Blut von ihr auf. Dieses leitete sie dem Katheter zu, da sie vor ihrem Eintritt in das Pankreasgewebe nicht unterbunden wurde.

Wir sind uns darüber im klaren, daß auch mit unserer Methode nicht die gesamte Insulinsekretion quantitativ exakt bestimmt werden konnte. Zwar wurde das Blut der ganzen Bauchspeicheldrüse gesammelt, aber die durchgeführte Unterbindungstechnik hat innerhalb des Organs völlig andere Kreislaufverhältnisse geschaffen. Diese und die willkürliche Regelung des Blutausflusses haben die Durchblutungsgröße des Pankreas vermutlich verändert. Manches deutet darauf hin, daß die Blutzirkulation im Pankreas einen Einfluß auf die Insulinsekretion hat, der schwer abzuschätzen ist (Woerner (1938), Vining (1949) sowie Haist (1959)). Bei einer Betrachtung der Insulinsekretion unter absoluten, quantitativen Aspekten darf dieser Faktor deshalb nicht vernachlässigt werden — ganz abgesehen von möglichen, bisher nicht untersuchten Einflüssen der großen operativen Belastung. Diese Einschränkungen gelten selbstverständlich auch für die Versuche der anderen Autoren.

Rückschlüsse auf die wahre Sekretionskapazität des Pankreas sind also nur unter Vorbehalt möglich. Die beeinflussenden Faktoren waren jedoch bei allen Experimenten gleich, so daß sie bei einem Vergleich der Einzelversuche bzw. der Versuchsgruppen untereinander vernachlässigt werden konnten.

So ist die hier beschriebene Methode gut geeignet, die Reaktion des Pankreas auf verschiedene Blutzuckerkonzentrationen zu prüfen und daran das funktionelle Verhalten der B-Zellen zu studieren.

2. Notwendigkeit einer Phlorizinvorbehandlung

In den Versuchen von Seltzer (1962) wurde den Hunden drei Tage vor der Operation das Futter entzogen und mit einer Phlorizinvorbehandlung begonnen. Dieses hatte eine hochgradige Verarmung der Leber an Glykogen und ein Absinken des peripheren Blutzuckerspiegels zur Folge und sollte die normale hyperglykämische Reaktion des Organismus auf die Narkose und den operativen Eingriff und die dadurch bedingte vorzeitige Insulinausschüttung verhindern.

Eine solche Vorbehandlung war bei unseren Versuchen nicht notwendig. Denn bei keinem der Versuchstiere ist während der mehrstündigen Operation und nach den Injektionen physiologischer Kochsalzlösung ein deutlicher Anstieg des Blutzuckerspiegels beobachtet worden. Abbildung 9 zeigt, daß er in der Kontrollgruppe 0 während der dreistündigen Versuchsdauer unverändert niedrig blieb.

Es scheint, daß die Reaktion auf einen operativen Eingriff von der Größe und dem Alter der Versuchstiere und der Spezies abhängig ist. Im Gegensatz zu den über 17 kg schweren Hunden der vorliegenden Versuche konnten

wir bei kleineren Hunden (10 - 12 kg Körpergewicht) mehrmals einen Blutzuckeranstieg beobachten. Wir wissen, daß dieses bei Versuchen mit einer anderen Spezies, dem Kaninchen, die Regel ist. Dabei wurde beobachtet, daß der Blutzuckerspiegel je nach der Schwere des operativen Eingriffes mehr oder weniger anstieg (Friedrich (1964)).

3. Zum Problem der Insulinbestimmung

Es muß betont werden, daß die im Serum gemessenen Insulinwirkungen keine Absolutwerte der Insulinkonzentration, sondern die effektiven biologischen Insulinwirkungen des Serums auf die Glucoseoxydation des isolierten Fettgewebes darstellen. Sie wurden im Vergleich mit dem Stoffwechseleffekt in Puffer gelöster Mengen kristallisierten Insulins bestimmt. Die so gemessene Insulinwirkung muß als Summe des Effektes von Insulin sowie aller möglicherweise synergistisch und antagonistisch wirksamen Faktoren (z.B. Insulin-Inhibitoren (Berson und Yalow (1960), Pfeiffer u.M. (1961-a)) und Hormone (Ditschuneit, Ziegler und Pfeiffer (1961))) angesehen werden. Deshalb darf exakt nur von einer "insulinähnlichen Wirkung" gesprochen werden (Vallance-Owen und Hurlock (1954), Renold u.M. (1960), Pfeiffer u.M. (1959-b und 1961-b)). Dieses wird von Leonards (1959), Goldberg und Egdahl (1961), Egdahl und Goldberg (1962), Steinke u.M. (1962), Saure (1963) sowie Schöffling u.M. (1964) unterstrichen. Denn diese Autoren konnten im Blut von total pankreatektomierten sowie von pankreatektomierten und hypophysektomierten Hunden (Schöffling u.M. (1964), Petzoldt (1964)) mit der Fettgewebsmethode zwar erniedrigte, aber selten unter 50% der Normalwerte abfallende Insulinaktivitäten messen.

Es sprechen jedoch eine Reihe von Resultaten dafür, daß die hier gebrauchte Bezeichnung "Serum-Insulin-Wirkung" ihre Berechtigung hat und die im Pankreasvenenblut gemessenen insulinähnlichen Wirkungen im wesentlichen dem

Insulin zuzuschreiben sind. Für die Spezifität der hier angewandten Rattenfettgewebismethode lassen sich nämlich anführen:

- a) Die Serum-Insulin-Wirkung steigt 10 min nach intravenöser Gabe von kristallinem Insulin beträchtlich an (Martin u.M. 1959), Ditschuneit u.M. (1963), Pfeiffer (1961)).
- b) Die normalen Insulinwirkungen im Pfortaderblut von Ratten und Hunden (Pfeiffer u.M. (1959-a,b,c)) und im Pankreasvenenblut von Hunden (Renold u.M. (1960), Müller-Ruchholtz u.M. (1962) sowie Abbildung 5) sind höher als die entsprechenden Werte im peripheren Venenblut. Nach Stimulation mit Tolbutamid oder Glucose verstärkt sich diese Differenz, und nach Unterbindung der Pankreasvenen bleiben die peripheren Insulinwerte nach der Glucoseinjektion bei stark erhöhten Werten im ausfließenden Pankreasvenenblut im Normalbereich.
- c) Bei Insulompatienten finden sich vor der operativen Entfernung des B-Zell-Adenoms signifikant erhöhte und danach normale Serum-Insulin-Wirkungen (Pfeiffer u.M. (1959-a,b,c), Ditschuneit, Pfeiffer und Schöffling (1961)).

Neben der Insulinbestimmungsmethode am isolierten Fettgewebe haben noch die am Rattenzwerchfell (Groen u.M. (1952), Vallance-Owen und Hurlock (1954), Randle (1954)) und die immunologischen Methoden von Yalow und Berson (1960), Grodsky und Forsham (1960) sowie Melani u.M. (1964) verbreitete Anwendung gefunden.

Bei der Bestimmung am isolierten Rattenzwerchfell wird als Maß der vorhandenen Insulinmenge die Glucoseaufnahme des Gewebes benutzt. Als Genauigkeitsindex (λ) wurde von Randle (1954) ein verhältnismäßig hoher Wert von 0,36 angegeben. Die gemessenen Insulin-

Normalwerte liegen beträchtlich unter denen der Fettgewebsmethode.

Bei den erwähnten immunologischen Methoden werden die bindenden Eigenschaften von Insulinantikörpern zur quantitativen Bestimmung kleinster Insulinmengen ausgenutzt. Die untere Meßgrenze liegt unter $1 \mu\text{E/ml}$; als Genauigkeitsindex (λ) wurde von Melani u.M. (1964) ein Wert von 0,24 errechnet. Die Insulin-Normalwerte sind auch hier wesentlich niedriger als die mit der Fettgewebsmethode gemessenen.

Im Gegensatz zu den oben angeführten Ergebnissen mit der Fettgewebsmethode konnten mit der Zwerchfellmethode (Groen u.M. (1952), Vallance-Owen und Lukens (1957)) und der immunologischen Methode (Berson (1962)) im Serum von pankreatektomierten Hunden und Katzen keine Insulinwirkungen nachweisen. Als Erklärung für die mit der Fettgewebsmethode nachweisbare, im Organismus verbleibende Serum-Insulin-Wirkung machen Steinke u.M. (1962) eine in vivo inaktive, möglicherweise an Proteine "gebundene" Insulinform verantwortlich.

Allen drei Methoden ist jedoch gemeinsam, daß mit ihnen nur Annäherungswerte an die absolute Insulinkonzentration des Serums gemessen werden können, da sie jeweils nur die von Insulin-Synergisten und -Antagonisten beeinflussbare, effektive Insulinwirkung erfassen.

4. "Gebundenes" und "freies" Insulin

Aus einer Reihe von Untersuchungen schloß Antoniades, daß im Blut zwei verschiedene Insulinformen zirkulieren: eine "freie", die den biologisch aktiven Anteil repräsentiert und eine an ein basisches Protein "gebundene" Form, die biologisch inaktiv ist (Antoniades (1961), Antoniades u.M. (1962)). Schon vorher wies Lindner (1956) eine Bindung des aus frischen Pankreas-

organen extrahierten "Nativinsulins" an basische Proteine nach.

Fettgewebe scheint die Fähigkeit zu besitzen, "gebundenes" Insulin spalten zu können (Antoniades und Gundersen (1961), Ball und Merrill (1961)), denn die Rattenfettgewebsmethode mißt beides, die "gebundene" und die "freie" Form des Insulins, während mit der Rattenzwerchfellmethode nur das "freie" Insulin erfaßt wird; nach Behandlung mit einem Fettgewebsextrakt jedoch auch das "gebundene" Insulin. (Gundersen (1962)).

In normalen Organismen liegt ein großer Teil des Seruminsulins in "gebundener" Form vor. Auf Grund dieser Tatsache bietet sich eine Erklärung für die niedrigen Insulinaktivitäten bei den Bestimmungen am Rattenzwerchfell an.

Eine intravenöse Glucosezufuhr vermag jedoch eine schnelle, vollständige Dissoziation des "gebundenen" Insulins in seine "freie" Form zu verursachen (Antoniades u.M. (1961)). Dieses konnte von Ditschuneit u.M. (1963 und 1964) bestätigt werden, die an Stoffwechselgesunden nachwiesen, daß normalerweise eine "gebundene" Form des Insulins in der gamma- und vor allem beta-Globulinfraktion zu finden ist. 30 min nach einer Glucosebelastung findet ein Anstieg des "freien" Insulins in der Albumin-alpha 1-Globulinfraktion statt.

Es erhebt sich deshalb die Frage, ob der Anstieg der Insulinaktivitäten -gemessen mit der Rattenzwerchfellmethode nach einer Glucoseverabreichung- wirklich nur durch eine gesteigerte Sekretion bedingt ist.

Die bei den vorliegenden Versuchen angewandte Bestimmungsmethode am isolierten Rattenfettgewebe mißt beide Formen des Insulins; eine Dissoziation der "gebundenen"

Form konnte somit die Ergebnisse nicht verfälschen.

5. Besprechung der Ergebnisse

a) Einfluß der Stimulation auf den Insulinspiegel im peripheren Venenblut

In ihren bereits erwähnten Versuchen maßen Egdahl und Goldberg (1962) mit der Fettgewebismethode nicht nur die Insulinaktivitäten im Pankreasvenenblut, sondern auch im venösen hepatischen und peripheren Blut von Hunden nach Glucoseinjektionen. Diese Messungen lassen vermuten, daß die Leber Insulin aus dem Pfortaderblut aufnimmt und es später wieder in die Lebervenen abgibt. Andere Arbeiten weisen darauf hin, daß die Leber die Fähigkeit besitzt, Insulin zu binden oder zu inaktivieren (Mortimor und Tietze (1959), Lee und Wiseman (1959), Tomizawa (1960), Pfeiffer (1961)). Ferner beobachteten Egdahl und Goldberg (1962) 15 Minuten nach der Glucoseinjektion neben dem Anstieg der Insulinaktivitäten im Pankreasvenenblut auch einen Anstieg des Insulinspiegels in der Peripherie. Sie vermuteten, daß dieser nicht einer pankreatischen Sekretion zuzuschreiben ist und dem Anstieg der peripheren Insulinaktivitäten nach einer Hyperglykämie bei pankreatektomierten Hunden entsprechen könnte. Das Fortbestehen der erhöhten peripheren Insulinwerte wurde mit dem späteren Freiwerden des Insulins aus der Leber erklärt.

In unseren Versuchen folgte der Hyperglykämie, wie Abbildung 4 zeigt, kein deutlicher Anstieg der Serum-Insulin-Wirkungen im peripheren Venenblut. Die Rolle der Leber, sowie das Freiwerden einer unbekannten Substanz mit insulinähnlicher Wirkung aus dem peripheren Gewebe, oder eine Verschiebung des Verhältnisses von "gebundenem" zu "freiem" Insulin während der Hyperglykämie, müssen daher nicht erörtert werden.

b) Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren

Im folgenden soll versucht werden, die Ergebnisse der Insulinmessungen im Pankreasvenenblut von Hunden aus unseren Stimulationsversuchen mit denen anderer Autoren zu vergleichen. Das ist aber nicht auf der Basis der Absolutwerte möglich, da die Insulinnormalwerte bei den einzelnen Versuchen und den verschiedenen Bestimmungsmethoden erheblich differieren. Deshalb läßt sich ein sehr grober Vergleich nur unter Zuhilfenahme der relativen Sekretionssteigerungen durchführen.

Anderson, Wherry und Bates (1959) beobachteten im Pankreasvenenblut von Hunden und Katzen nach etwa 5 fachen Blutzuckeranstieg einen 10 fachen Anstieg der Insulinaktivität, die allerdings mit der sehr ungenauen in vivo-Methode durch den Blutzuckerabfall an alloxandiabetischen, hypophysektomierten Ratten bestimmt wurde. Mit der genaueren, hier beschriebenen Methode am Rattenfettgewebe fanden Egdahl und Goldberg (1962) in 9 Einzelversuchen (18 Messungen) einen mittleren, etwa 5 fachen Anstieg der Insulinsekretion bei einer 3 fachen Blutzuckererhöhung. Bei Metz (1960), der die Rattenzwerchfellmethode in 6 Versuchen (17 Messungen) anwandte, entsprach einer 4 fachen Blutzuckersteigerung etwa eine 10 fache Erhöhung der Insulinsekretion. Mit derselben Methode fand Seltzer (1962) in 8 Versuchen (23 Messungen) nach einem ungefähr 7 fachen Blutzuckeranstieg eine 100 fache Steigerung der Insulinaktivität. Die vorliegenden zwei Versuchsgruppen (je 5 Versuche mit 38 bzw. 44 Messungen) ergaben nach etwa 5 facher Erhöhung des Blutzuckerspiegels einen durchschnittlichen 2 fachen Insulinanstieg und nach etwa 10 facher Erhöhung einen durchschnittlichen 4 fachen Anstieg der Insulinwirkung, jeweils in den ersten 40 Versuchsminuten.

Diese Gegenüberstellung zeigt, daß auch die Insulinsekretionssteigerungen nach Glucoseinjektionen bei ver-

schiedenen Autoren kein einheitliches Bild ergeben, aus dem sich eine Gesetzmäßigkeit ableiten ließe. Dies mag an der ernährungsbedingten, unterschiedlichen Stoffwechsellage der Hunde, den verschiedenen Versuchsanordnungen und vor allem an der großen und auch verschiedenen Fehlerbreite der einzelnen Bestimmungsmethoden liegen. - (Unberücksichtigt bleiben mußten hier leider neueste Versuche ähnlicher Fragestellung von F.Gjedde (1964)).

c) Vergleich mit dem Stimulationseffekt nach Tolbutamid.

Die Methoden der Insulinsekretionsmessungen eignen sich jedoch recht gut, um die stimulierende Wirkung verschiedener Substanzen auf die B-Zellen miteinander zu vergleichen. So wurden mit der oben beschriebenen Versuchsanordnung neben den Stimulationsversuchen mit der Hyperglykämie solche mit dem Sulfonylharnstoffpräparat Tolbutamid an 5 Hunden durchgeführt (Müller-Ruchholtz u.M. (1962)). Es zeigte sich, daß nach einer Injektion von 100 mg Tolbutamid pro kg Körpergewicht ein regelmässiger Anstieg der Insulinsekretion in die Vena pancreaticoduodenalis erfolgte. Diese Sekretionssteigerung lag in ihrem Ausmaß zwischen den durch die verschieden hohe Hyperglykämie verursachten Steigerungen in den Versuchsgruppen I und II. Bei 3 der 5 mit Tolbutamid behandelten Hunde waren einige Werte signifikant höher als die der ersten Gruppe, und bei 4 dieser Hunde waren mehrere Werte signifikant tiefer als die der zweiten. Man kann deshalb nicht einfach, wie Seltzer (1962), den sekretorischen Effekt von Sulfonylharnstoffen oder anderen Substanzen mit dem irgendeiner Hyperglykämie vergleichen. Ein solcher Vergleich ist nur auf der Basis eines gegebenen Blutzuckerspiegels möglich.

Unsere Gegenüberstellung ließ keinen prinzipiellen Unterschied zwischen dem Stimulationseffekt des Tolbutamids und dem der beiden erhöhten Blutzuckerkonzentrationen erkennen. Es scheint aber, daß die Insulinsekretion nach

Tolbutamid nicht mit dem absoluten Spiegel des Medikamentes im Blut zu korrelieren ist (Pfeiffer (1963)).

Das Verhalten der B-Zellen unter dem verschiedenen Stimulationsreiz der Hyperglykämie und der Sulfonylharnstoffe wurde auch von anderen Autoren untersucht.

Anderson, Wherry und Bates (1959) konnten im Gegensatz zu der oben erwähnten 10 fachen Steigerung der Insulinaktivität nach Glucose mit Tolbutamid nur eine geringe, nicht eindeutige Steigerung erzielen. In klinischen Belastungsversuchen fanden Yalow u.M. (1960) mit der immunologischen Bestimmungsmethode im peripheren Venenblut nach Glucose einen signifikant höheren Anstieg der Insulinkonzentration als nach Tolbutamid. Seltzer (1962), der, wie bereits erwähnt, die sekretorische Wirkung mehrerer blutzuckersenkender Substanzen untersuchte, stellte im Pankreasvenenblut von Hunden nach einer Blutzuckererhöhung eine 10 mal so große Insulinaktivität als nach Tolbutamid fest. Da in allen diesen Versuchen eine verschieden hohe Hyperglykämie erzeugt wurde, ist ein exakter Vergleich mit unseren Befunden nicht möglich. Alle Ergebnisse sprechen aber dafür, daß eine hohe Blutzuckerkonzentration einen größeren Stimulationseffekt als Sulfonylharnstoffe hat.

Der Unterschied zwischen den Insulinsekretionen nach diesen beiden Stimulantien, den Seltzer (1962) beobachtete, ist im Vergleich zu unseren Werten bedeutend größer, obgleich der mittlere, maximale Blutzuckerwert in seinen Versuchen mit 417 mg% niedriger war. Dieser Unterschied ist hauptsächlich durch das extrem hohe Ansteigen der Insulinwerte auf das 100 fache unter der Hyperglykämie bedingt. Es muß diskutiert werden, ob nicht die bei allen Versuchstieren durchgeführte dreitägige Phlorizinvorbehandlung durch das Absinken des Blutzuckerspiegels und der basalen Insulinsekretion die Sensitivität der B-Zel-

len gegenüber der plötzlichen Hyperglykämie erhöht nat.

Ferner bestimmte Seltzer den Insulingehalt mit der Rattenzwerchfellmethode. Es wurde schon darauf hingewiesen, daß diese Technik nur das "freie" Insulin mißt, und eine Glucosezufuhr eine Dissoziation des "gebundenen" Insulins zur Folge hat. Es besteht daher der begründete Einwand, daß der große Anstieg des meßbaren Insulins nach der Glucoseinjektion nicht nur der Sekretion, sondern auch der Dissoziation des Insulins aus seiner "gebundenen" in die meßbare "freie" Form zuzuschreiben ist. Da diese beiden Einwände für unsere Versuche mit der Fettgewebismethode nicht zutreffen, könnte der Unterschied zwischen Seltzers und unseren Ergebnissen damit eine Erklärung finden.

1) beziehungen zwischen Blutzucker, Insulinsekretion und Zeit

Die stimulierende Wirkung der Hyperglykämie auf die Insulinsekretion ist von Metz (1960) näher analysiert worden. Eine graphische Darstellung der Abhängigkeit dieser beiden Größen ergab eine nach oben hin konkave Kurve. Das bedeutet, daß der stimulatorische Effekt mit wachsender Blutzuckerkonzentration immer größer wurde.

In derselben Weise wurden die Blutzucker- und Insulinwerte unserer Versuchsgruppen I und II dargestellt, und es fand sich, daß das Ergebnis von Metz nur eine begrenzte Gültigkeit hat. Denn unsere Versuche wurden über einen wesentlich längeren Zeitraum durchgeführt, und die beiden Kurven, die aus den Werten zwischen der 10. und 40. Versuchsmminute und denen der weiteren Versuchsdauer erhalten wurden, unterschieden sich völlig. Abbildung 10 zeigt die überraschende Übereinstimmung des immer steiler ansteigenden Verlaufes der ersten Kurve mit der von Metz und den immer flacher werdenden Verlauf der Kurve aus den

Werten nach der 40. Versuchsminute trotz weiterbestehender Hyperglykämie. Wurden die Werte der ganzen Versuchszeit zusammengefaßt, so verlief diese Kurve zwischen den beiden dargestellten. Die Insulinsekretion wird also nicht nur von dem Blutzuckerspiegel reguliert, sondern es besteht auch eine Beziehung zur Zeit, das heißt zur Dauer der Stimulation.

Die Beziehungen zwischen den drei Faktoren Blutzuckerspiegel, Insulinsekretion und Zeit werden noch besser veranschaulicht, wenn man den Anstieg und Abfall der Insulinsekretion der Versuchsgruppen I und II miteinander vergleicht (Abbildung 9). Im Gegensatz zur ersten Gruppe wurden in der zweiten schnell die Spitzenwerte erreicht, aber viel früher nahm die Sekretion wieder ab, blieb jedoch während der ganzen Beobachtungszeit erhöht. Dieses Nachlassen der Insulinsekretion muß als eine relative Erschöpfung der Fähigkeit der B-Zellen, den ständig größer werdenden Stimulationsreiz zu beantworten, gedeutet werden. Daß eine funktionelle Überbeanspruchung durch chronische Hyperglykämie sogar zu pathologischen Veränderungen der B-Zellen und einem Diabetes mellitus führen kann, haben Dohan und Lukens (1947 und 1948) in ihren eingangs erwähnten Versuchen demonstriert.

Die Blutzuckergröße beeinflusst aber nicht nur die Dauer, sondern auch die Schnelligkeit der Reaktion des Inselorgans. Je intensiver der Reiz ist, desto schneller erfolgt die maximale Reaktion, um so schneller aber auch, offenbar als Folge unzureichender Neubildung, der Rückgang der Sekretion (Pfeiffer (1963)).

Fassen wir nun zusammen, so können die beiden in der Einleitung gestellten Fragen folgendermaßen beantwortet werden:

Zwischen dem Blutzuckerspiegel im untersuchten Bereich und der Insulinsekretion besteht beim Hund eine direkte Beziehung. Das Ausmaß des Sekretionsreizes beeinflusst jedoch zusätzlich Schnelligkeit und Dauer der Pankreasreaktion, so daß die B-Zellen bei sehr hohem Blutzuckerspiegel ihre schnell erhöhte Sekretionsleistung nicht über längere Zeit unverändert aufrechterhalten können.

F. Zusammenfassung

=====

Die stimulierende Wirkung verschieden hoher Blutzuckerkonzentrationen auf die Insulinsekretion des partiell isolierten, aber in situ belassenen Pankreas wurde an narkotisierten Hunden untersucht. Die Katheterisierung der Vena pancreaticoduodenalis und vollständige Unterbindung aller anderen pankreasblutführenden Venen ermöglichte es, das venöse Blut aus der gesamten Bauchspeicheldrüse abzuleiten und außerhalb des Körpers zu sammeln. Durch gleichzeitige Hundebluttransfusionen konnte die Versuchsdauer bis zu drei Stunden ausgedehnt werden.

Die einzelnen Versuche gliedern sich in 3 Gruppen: Bei 5 Hunden wurde der Blutzuckerspiegel durch Glucoseinjektionen etwa um das 5 fache (Gruppe I), bei 5 anderen Hunden etwa um das 10 fache (Gruppe II) erhöht. Kontinuierliche Glucoseinfusionen verhinderten sein Absinken während der Versuchszeit. Bei 6 weiteren Hunden wurden zur Kontrolle die injizierten Glucosemengen durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt (Gruppe 0).

Aus dem Pankreas- und dem peripheren Venenblut wurden in bestimmten Zeitabständen zahlreiche Blutproben entnommen. Der Insulingehalt dieser Blutproben wurde mit der Methode der Glucoseoxydation am epididymalen Rat-

tenfettgewebe und die Blutzuckerkonzentration mit der enzymatischen Methode nach Huggett und Nixon bestimmt.

Während die im Pankreasvenenblut gemessene Insulinsekretion in der Kontrollgruppe im Normalbereich blieb, war sie in den beiden anderen Gruppen, vor allem in der zweiten, nach der Stimulation signifikant erhöht. Der höchste, mittlere Anstieg der Insulinsekretion wurde in der Gruppe I von $3,66 \pm 1,4$ mE/min auf $13,2 \pm 4,1$ mE/min erst 100 min nach den Glucoseinjektionen, in der Gruppe II von $6,5 \pm 2,1$ mE/min auf $36,4 \pm 16,9$ mE/min bereits nach 40 min gemessen; aber schon nach 10 min war die Insulinsekretion in der Gruppe II mit $27,2 \pm 10,7$ mE/min signifikant gesteigert. Diese maximale Sekretion konnte jedoch bei ansteigendem Blutzuckerspiegel nicht aufrechterhalten werden. Die gleichzeitigen Bestimmungen im peripheren Venenblut ergaben keinen eindeutigen Anstieg des Insulinspiegels.

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen folgende Schlussfolgerung zu:

Zwischen dem Blutzuckerspiegel und der Insulinsekretion besteht eine direkte Relation. Diese Abhängigkeit wird von der Größe und der Dauer der Stimulierung beeinflusst.

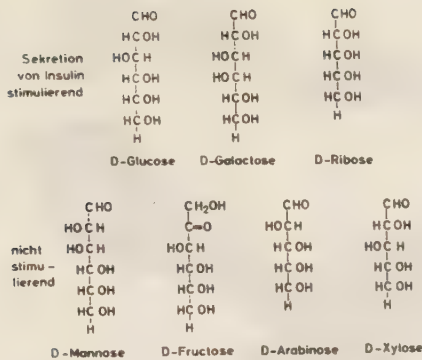


Abbildung 1: Konfiguration verschiedener Zucker, die die Insulinsekretion anregen, im Vergleich zu inerten.
(Nach Pozza u.M. (1958) aus: Marble und Cahill (1962)).

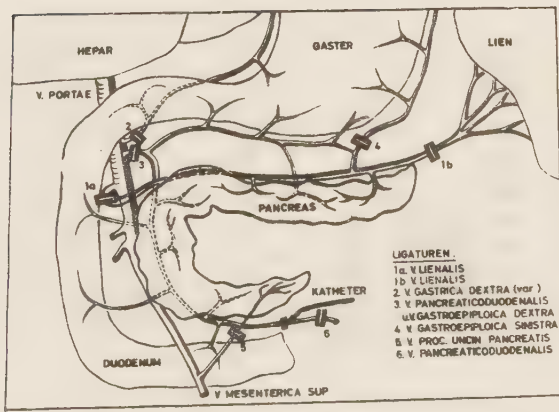
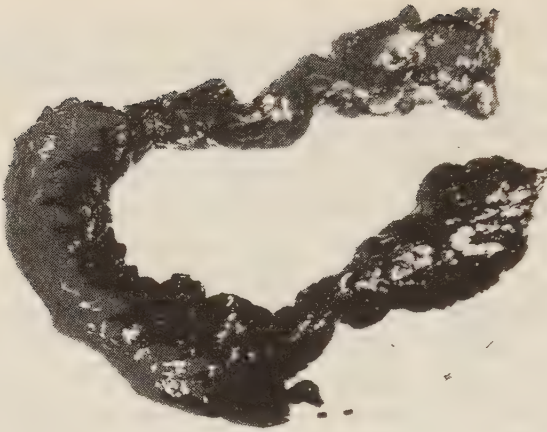
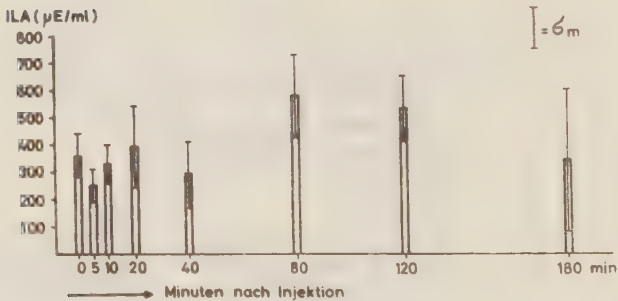


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Unterbindungstechnik aller pankreasblutführenden Venen. Durch den Katheter in der Vena pancreaticoduodenalis kann das Pankreasvenenblut abgeleitet und gesammelt werden.



Abbildungung 3: Hundepankreas, nach Beendigung eines Versuches freipräpariert. Durch retrograde Evans-blau-Injektion in den Katheter in der Vena pancreaticoduodenalis hat sich das gesamte Organ blauschwarz angefärbt.



Abbildungung 4: Mittlere Serum-Insulin-Wirkungen (μ E/ml) im peripheren Venenblut von 10 Hunden vor und nach 5 - 10 facher Blutzuckererhöhung bei gleichzeitigem Ausfluß des Pankreasvenenblutes.

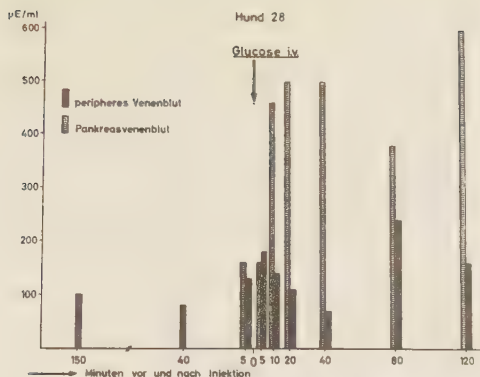


Abbildung 5: Serum-Insulin-Wirkungen ($\mu\text{E}/\text{ml}$) im peripheren und im ausfließenden Pankreasvenenblut vor und nach einer Glucoseinjektion bei einem Hund.

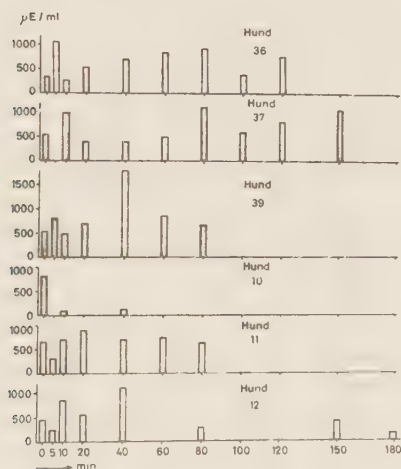


Abbildung 6: Serum-Insulin-Wirkungen ($\mu\text{E}/\text{ml}$) im Pankreasvenenblut von 6 Hunden bei gleichbleibendem Blutzuckerspiegel vor und nach einer Injektion physiologischer Kochsalzlösung (Gruppe 0).

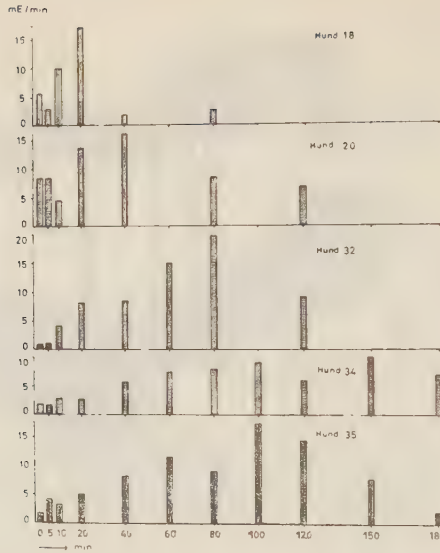


Abbildung 7: Insulinsekretion (mE/min) im ausfließenden Pankreasvenenblut von 5 Hunden vor und nach etwa 5facher Erhöhung des Blutzuckerspiegels (Gruppe I).

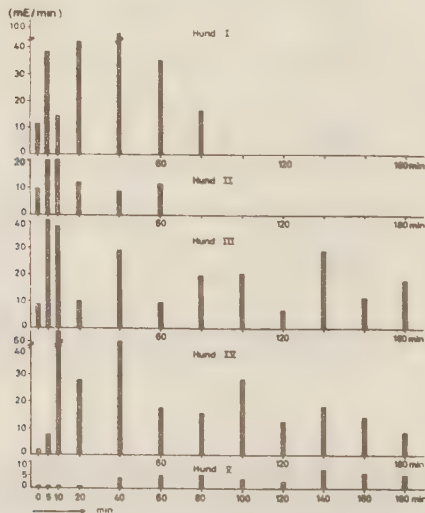
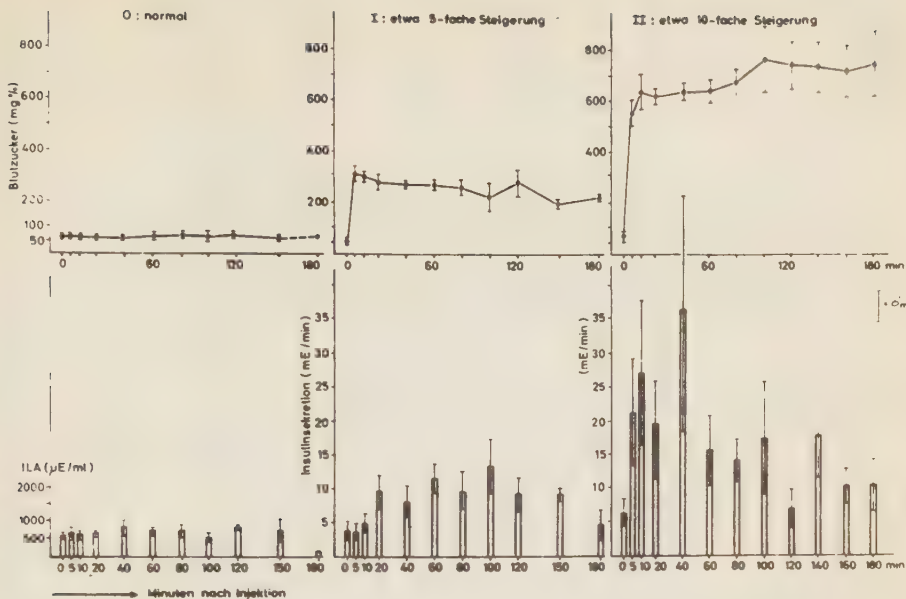
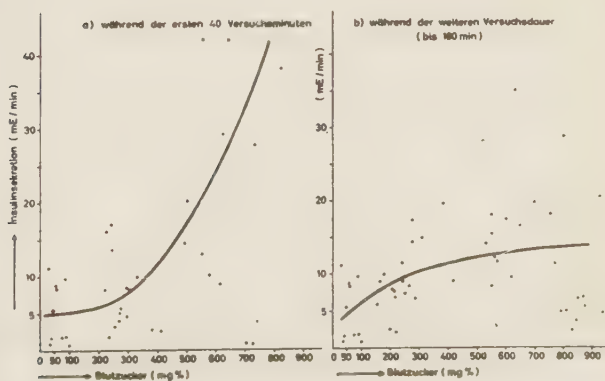


Abbildung 8: Insulinsekretion (mE/min) im ausfließenden Pankreasvenenblut von 5 Hunden vor und nach etwa 10 facher Erhöhung des Blutzuckerspiegels (Gruppe II).



Abbildungung 9: Vergleich der Insulinsekretion bei verschiedenen Blutzuckerspiegeln. O: Mittelwerte von 6 Hunden vor und nach einer Injektion physiologischer Kochsalzlösung. I: Mittelwerte von 5 Hunden vor und nach etwa 5 facher Erhöhung des Blutzuckerspiegels. II: Mittelwerte von 5 Hunden vor und nach etwa 10 facher Erhöhung des Butzuckerpiegels.



Abbildungung 10: Beziehung zwischen Blutzuckerspiegel und Insulinsekretion in zwei verschiedenen Versuchsabschnitten an 10 Hunden.

TABELLE 1

Gruppe 0 : Normale Insulinsekretion (mE/min)

Hund Nr.		Minuten nach Injektion											
		0	5	10	20	40	60	80	100	120	150	180	
1. Blut-													
zucker													
(mg%)													
36	60	54	58	57	54	69	71	83	78	-	-	-	
37	51	-	55	53	44	44	44	47	55	53	-	-	
39	53	62	56	47	41	37	69	-	-	-	-	-	
10	58	-	64	-	85	-	-	-	-	-	-	-	
11	76	75	86	88	89	103	106	-	-	-	-	-	
12	63	69	57	47	35	-	46	-	-	-	57	61	
M	60	65	63	58	58	63	67	65	67	55	(61)	-	
Gm	+4	+5	+4	+8	+9	+15	+11	+18	+10	+2	-	-	
2. Blut-													
ausfluß													
(ml/min)													
36	7,0	7,7	6,4	7,0	7,9	8,0	7,8	7,6	7,9	-	-	-	
37	7,4	-	8,0	8,6	8,0	9,0	8,7	8,2	8,7	8,5	-	-	
39	8,2	8,8	8,5	7,2	7,7	6,5	7,6	-	-	-	-	-	
M	7,5	8,3	7,6	7,6	7,9	7,8	8,0	7,9	8,3	(8,5)	-	-	
Gm	+0,5	+0,6	+0,8	+0,6	+0,2	+0,8	+0,5	+0,3	+0,4	-	-	-	
3. Serum-													
Insulin-													
Wirkung													
(µE/ml)													
36	330	1060	260	540	700	840	940	400	780	-	-	-	
37	540	-	1000	400	400	500	1120	600	820	1060	-	-	
39	550	820	500	700	1800	840	680	-	-	-	-	-	
10	820	-	100	-	120	-	-	-	-	-	-	-	
11	660	320	700	900	700	740	620	-	-	-	-	-	
12	460	240	840	560	1100	-	280	-	-	-	400	160	
M	560	610	570	620	800	730	730	500	800	730	(160)	-	
Gm	+70	+190	+140	+90	+240	+80	+150	+100	+20	+330	-	-	
p <	-	0,8	1	0,6	0,4	0,2	0,3	0,7	0,2	0,5	-	-	
4. Insulin-													
sekretion													
(mE/min)													
36	2,3	8,2	1,7	3,8	5,5	6,7	7,3	3,0	6,2	-	-	-	
37	4,0	-	8,0	3,4	3,2	4,5	9,7	4,9	7,1	9,0	-	-	
39	4,5	7,2	4,3	5,0	13,9	5,5	5,2	-	-	-	-	-	

Gruppe I : Steigerung der Insulinsekretion (mE/min) durch etwa 5-fache Erhöhung des Blutzuckerspiegels

Hund Nr.	0	5	10	20	40	60	80	100	120	150	180
	Minuten nach Injektion										
1. Blut-											
zucker											
(mg%)											
18	47	358	328	242	234	-	198	-	-	-	-
20	57	344	295	242	224	-	263	-	287	-	-
32	37	262	272	221	294	308	381	-	417	-	-
34	75	370	382	411	275	252	206	163	153	1178	216
35	40	225	256	270	302	239	242	275	275	212	218
M	51,2	312	307	277	266	266	258	219	283	195	217
Gm	+6,9	+28	+22	+34	+14	+23	+33	+56	+54	+16	+1
P <	-	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,01	0,01	0,001	0,001
2. Blut-											
ausfluß											
(ml/min)											
18	10,5	9,3	5,5	4,6	3,7	-	7,0	-	-	-	-
20	7,5	10,0	9,5	7,0	4,2	-	3,8	-	3,5	-	-
32	6,6	8,2	7,4	8,1	7,3	7,1	8,9	-	7,5	-	-
34	7,1	8,7	7,4	6,8	8,1	7,4	6,2	9,0	7,8	7,3	8,5
35	6,3	9,0	8,8	7,0	6,6	7,0	7,0	7,4	8,1	7,4	7,1
M	7,6	9,0	7,9	6,7	6,0	7,2	6,6	8,2	6,7	7,4	7,8
Gm	+0,8	+0,5	+0,7	+0,6	+0,9	+0,2	+0,8	+0,8	+1,1	+0,05	+0,7
3. Serum-											
Insulin-											
Wirkung											
(µE/ml)											
18	520	300	1800	3700	480	-	360	-	-	-	-
20	1120	840	480	1940	3800	-	2200	-	1920	-	-
32	140	140	480	1000	1150	2100	2200	-	1200	-	-
34	260	200	380	380	700	1000	1280	1000	760	1400	800
35	270	460	360	720	1240	1640	1280	2340	1760	1040	300
M	460	390	700	1550	1470	1580	1460	1670	1410	1220	550
Gm	+170	+130	+280	+590	+600	+320	+340	+670	+270	+180	+250
4. Insulin-											
sekretion											
(mE/min)											
18	5,5	2,8	9,9	17,0	1,8	-	2,5	-	6,7	-	-
20	8,4	8,4	4,6	13,6	16,0	-	8,4	-	9,0	-	-
32	0,9	1,1	4,0	8,1	8,4	14,9	19,6	-	-	-	-
34	1,8	1,7	2,8	2,6	5,7	7,4	7,9	9,0	5,9	10,0	6,8
35	1,7	4,1	3,2	5,0	8,2	11,5	9,0	17,3	14,3	7,7	2,1
M	3,66	3,62	4,9	9,3	8,0	11,3	9,5	13,2	9,0	8,9	4,5
Gm	+1,4	+1,3	+1,3	+2,6	+2,3	+2,1	+2,8	+4,1	+2,6	+0,9	+2,3
P <	-	1	0,5	0,1	0,2	0,05	0,2	0,05	0,2	0,4	0,9

Gruppe II: Steigerung der Insulinsekretion (mU/min) durch etwa 10-fache Erhöhung des Blutzuckerspiegels

		Minuten nach Injektion											
Hund Nr.		0	5	10	20	40	60	80	100	120	140	160	180
1. Blut- zucker (mg%)	I	29	430	490	550	580	630	650	-	-	-	-	-
	II	84	425	500	550	613	570	-	-	-	-	-	-
	III	53	625	820	575	620	620	700	950	850	800	770	755
	IV	90	700	690	730	640	600	550	520	560	550	530	550
	V	101	630	704	726	740	792	808	844	830	868	874	934
2. Blut- ausfluß (ml/min)	I	18,7	27,3	20,0	16,2	14,4	11,7	11,0	-	-	-	-	-
	II	29,4	25,0	23,4	23,8	11,1	11,2	-	-	-	-	-	-
	III	13,0	28,8	22,2	12,5	8,1	6,5	5,1	6,6	5,1	6,4	6,8	5,3
	IV	15,9	18,3	18,3	10,3	5,4	5,8	5,7	5,2	3,2	3,4	4,7	4,8
	V	20,0	25,0	21,4	12,0	13,5	10,9	12,2	13,3	16,3	13,6	14,5	10,4
3. Serum- Insulin- Wirkung (µE/ml)	I	19,4	24,9	21,1	15,0	10,5	9,2	8,5	8,4	8,2	7,8	8,7	6,8
	II	29,8	21,7	20,8	22,4	21,7	21,3	21,7	22,5	24,1	23,0	22,9	21,8
	III	600	1400	720	2600	6800	3000	1500	-	-	-	-	-
	IV	330	800	860	540	800	1040	-	-	-	-	-	-
	V	680	1400	1720	800	3600	1460	3860	3100	1300	4500	1680	3400
4. Insulin- sekretion (mU/min)	I	11,2	38,2	14,4	42,1	97,9	35,1	16,5	-	-	-	-	-
	II	9,7	20,0	20,1	12,9	8,8	11,6	-	-	-	-	-	-
	III	8,8	40,3	38,2	10,0	29,2	9,5	19,7	20,5	6,6	28,8	11,4	18,0
	IV	1,9	7,3	62,2	27,8	42,1	17,4	15,4	28,1	12,2	18,0	14,1	8,3
	V	0,8	0,8	0,9	0,8	3,8	4,8	4,9	3,6	2,3	6,8	5,5	4,8
M		6,5	21,3	27,2	18,7	36,4	15,7	14,1	17,4	7,0	17,9	10,3	10,4
Gm		+2,1	+8,0	+10,7	+7,3	+16,9	+5,2	+3,2	+8,3	+2,9	+6,4	+2,6	+3,9
p <		-	0,1	0,05	0,1	0,1	0,1	0,05	0,1	0,45	0,05	0,15	0,2

H. Literaturangaben

=====

- Anderson, E., and J.A. Long: The effect of hyperglycemia on insulin secretion as determined with the isolated rat pancreas in a perfusion apparatus.
Endocrinology 40, 92, 1947
- Anderson, E., F. Wherry, and R.W. Bates: Factors influencing secretion of insulin.
Fed. Proc. 18, 4, 1959
- Antoniades, H.N.: Studies on the state of insulin in blood: The state and transport of insulin in blood.
Endocrinology 68, 7, 1961
- Antoniades, H.N., and K. Gundersen: Studies on the state of insulin in blood. Dissociation of purified human blood insulin complexes by incubation with adipose tissue extracts in vitro.
Endocrinology 68, 36, 1961
- Antoniades, H.N., K. Gundersen, P.M. Beigelmann, H.M. Pyle, and J.A. Bougas: Studies on the state, transport, and regulation of insulin in human blood.
Diabetes 11, 261, 1962
- Antoniades, H.N., K. Gundersen, and H.M. Pyle: Studies on the state of insulin in blood: The role of glucose in the in vitro dissociation of insulin complexes.
Endocrinology 69, 163, 1961
- Ball, E.G., and M.A. Merrill: A manometric assay of insulin and some results of the application of the method to sera and islet-containing tissues.
Endocrinology 69, 596, 1961
- Barron, S.S.: Significance of the beta granules in the islets of Langerhans of the pancreas.
Arch. Path. 46, 159, 1948
- Barron, S.S., and D. State: Effect of prolonged intravenous administration of the dextrose on the beta cells of the islets of Langerhans.
Arch. Path. 48, 297, 1949
- Batts, A.: Use of the Golgi apparatus as an indicator of the level of activity of the cells of the islets of Langerhans.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 82, 302, 1959

- Bell, E.: The incidence and significance of the granulation of the beta cells in the islets of Langerhans in diabetes mellitus. *Diabetes* 2, 125, 1953
- Berson, S.A.: Immunoassay of hormones. *Ciba Found. Colloq. on Endocr.* 14, 180, 1962
- Berson, S.A., and R.S. Yalow: Insulin inhibitors and insulin resistance. *N. York State J. M.* 60, 3658, 1960
- Bouman, P.R., and J.H. Gaarenstroom: Stimulation by carbutamide and tolbutamide of insulin release from rat pancreas in vitro. *Metabolism* 10, 1095, 1961
- Brown, E.M.Jr., F.C. Dohan, L.R. Freedman, P. De Moor, and F.D.W. Lukens: The effects of prolonged infusion of the dog's pancreas with glucose. *Endocrinology* 50, 644, 1952
- Candela, J.L.R., D. Martin-Hernandez, and C. Cortazar: Insulin secretion "in vitro" (preliminary communication). 4. Kongr. Intern. Diab. Vereinigg., Ed. *Médecine et Hygiène Genève*, 1961, Vol.1, p.629
- Ditschuneit, H.: Die biologische und klinische Bedeutung der Insulinwirkung von Blut und Bluteiweißfraktionen. Vergleichende Untersuchungen an Stoffwechselgesunden, Diabetikern und Prädiabetikern. *Habilitationsschrift, Frankfurt/Main*, 1964
- Ditschuneit, H., J.-D. Faulhaber und E.F. Pfeiffer: Verbesserung der Methode zur Bestimmung von Insulin im Blut mit Hilfe radioaktiver $1\text{-}^{14}\text{C}$ Glucose und dem epididymalen Ratentenfettgewebe. *Atompraxis* 8, 172, 1962
- Ditschuneit, H., H. Kolb, Ch. Wahl, R. Morcos, W.H. Rott und E.F. Pfeiffer: Untersuchungen zur Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels beim Prädiabetes. 10. Symp. Dtsch. Ges. Endokrin., Wien, 1963 in: E. Klein: Schilddrüsenhormone und Körperperipherie. *Springer, Berl.-Gött.-Heidelbg.*, 1964, S.260
- Ditschuneit, H., E.F. Pfeiffer, R. Cuendet, H. Kolb, Ch. Wahl und W.H. Rott: Über die Seruminsulinwirkung bei Stoffwechselgesunden und Diabetikern. 1. Symp. Dtsch. Diab.-Kom., Düsseldorf 1962, K. Oberdisse und K. Jahnke Herausg., Thieme, Stuttgart, 1963, S. 37

- Ditschuneit, A., E.F. Pfeiffer und K. Schöffling: Serum-insulinbestimmungen bei Inselzelladenomen. *Vern. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 67, 359, 1961
- Ditschuneit, A., R. Ziegler und E.F. Pfeiffer: Über die Bestimmung von Insulin im Blute am epidiidymalen Fettanhang der Ratte mit Hilfe markierter Glucose. V.Mitteilung: Die Wirkung von menschlichem und bovinem Wachstumshormon und anderen Stoffwechselhormonen auf den Kohlenhydratstoffwechsel des isolierten Rattenfettgewebes. *Klin. Wschr.* 39, 426, 1961
- Donan, F.C., and F.D.W. Lukens: Lesions of the pancreatic islets produced in cats by administration of glucose. *Science* 105, 183, 1947
- Dohan, F.C. and F.D.W. Lukens: Experimental diabetes produced by the administration of glucose. *Endocrinology* 42, 244, 1948
- Egdahl, R.H., and H. Goldberg: Pancreatic and hepatic influences on serum insulin-like-activity in the dog. *Surg. Gyn. Obstet.* 114, 202, 1962
- Foa, P.P., A.R. Weinstein, and J.A. Smith: Secretion of insulin and of a hyperglycemic substance studied by means of pancreatic-femoral cross-circulation experiments. *Am. J. Physiol.* 157, 197, 1949
- Foglia, V.G. et R. Fernandez: Action directe du glucose sur la sécrétion de l'insuline par le pancréas. *Compt. rend. Soc. biol.* 121, 355, 1936
- Frick, H.: persönliche Mitteilung
- Friedrich, H.: Inauguraldissertation der Medizinischen Fakultät der Univ. Frankfurt/Main, 1964
- Gayet, R. et M. Guillaumie: Expériences concernant l'effet de l'excitation électrique du vague sur l'insulino-sécrétion. *Compt. rend. Soc. biol.* 112, 1197, 1933
- Goldberg, H.L., and Egdahl, R.H.: Studies suggesting the extrapancreatic production of substances with insulin-like-activity. *Fed. Proc.* 20, 190, 1961
- Grafe, E. und F. Meythaler: Beitrag zur Kenntnis der Regulation der Insulinproduktion. I. Mitteilung: Der Traubenzucker als Hormon für die Insulinabgabe. *Arch. exp. Path. u. Pharm.* 125, 181, 1927

- Grafe, E. und F. Meythaler: Beitrag zur Kenntnis der Regulation der Insulinproduktion.
II.Mitteilung: Die Wirkung von Kohlenhydraten (außer Traubenzucker) auf die Insulinabgabe.
Arch. exp. Path. u. Pharm. 131, 80, 1928
III.Mitteilung: Die Wirkung von Anhydrokohlenhydraten, Zuckerderivaten und Zuckerspaltungsprodukten.
Arch. exp. Path. u. Pharm. 136, 360, 1928
- Grodsky, G.M., A.A. Batts, L.L. Bennet, C. Vcella, N.B. Mc.Williams, and D.F. Smith: Effects of carbohydrates on secretion of insulin from isolated rat pancreas.
Am. J. Physiol. 205, 638, 1963
- Grodsky, G.M., and L.L. Bennet: Insulin secretion from the isolated pancreas in absence of insulinogenesis.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 114, 769, 1963
- Grodsky, G.M., L.L. Bennet, A. Batts, N.B. Mc.Williams, and C. Vcella: Insulin secretion from isolated perfused pancreas.
Fed. Proc. 21, 202, 1962
- Grodsky, G.M., and P.H. Forsham: An immunochemical assay of total extractable insulin in man.
J. clin. Invest. 39, 1070, 1960
- Groen, J., C.E. Kamminga, A.F. Willebrands, and J.R. Blickman: Evidence for the presence of insulin in blood serum. A method for an approximate determination of the insulin content of blood.
J. clin. Invest. 31, 97, 1952
- Gundersen, K.: The problem of insulin in blood.
Diabetes 11, 69, 1962
- Haist, R.E.: Factors affecting the insulin content of the pancreas.
Physiol. Rev. 24, 409, 1944
- Haist, R.E.: Islets cell function.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 82, 266, 1959
- Hartroft, W.St., and S.A. Wrenshall: Correlation of beta cell granulation with extractable insulin of the pancreas.
Diabetes 4, 1, 1955
- Houssay, B.A., V.G. Foglia, F.S. Smyth, C.T. Rietti, and A.B. Houssay: The hypophysis and secretion of insulin.
J. Exp. Med. 75, 547, 1942
- Huggett, A.St.G., and D.A. Nixon: Enzymic determination of blood glucose.
Biochem. J. 66, 12, 1956

- Lacy, P.E., and W.S. Hartroft: Electronmicroscopy of the islets of Langerhans.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 82, 287, 1959
- Lazarow, A.: Insulin and glucagon secretion.
In: Diabetes (R.H. Williams Ed.), P.B. Hoeber, N. York 1960, p. 29
- Lazarus, S.S., and H. Barden:
J. Histochem. Cytochem. 9, 628, 1961
- Lee, N., and R. Wiseman: The significance of the binding of insulin-I¹³¹ to cytostructural elements of rat liver.
Endocrinology 65, 442, 1959
- Leonards, J.R.: Insulin-like-activity of blood. What is it?
Fed. Proc. 18, 272, 1959
- Levine, R.: Concerning the mechanism of insulin action. (The Banting Memorial Lecture 1961).
Diabetes 10, 421, 1961
- Lindner, F.: in: Insulin und Insulintherapie.
W. Stich und H. Maske Herausg., Urban u. Schwarzenberg, München 1956, S. 22
- London, E.S. und N. Kotchneff: Der Mechanismus der alimentären Hyperglykämie. I. Mitteilung: Die Rolle der Zuckerresorption aus dem Darne und der Inkretion des Pankreas.
Zschr. ges. exp. Med. 101, 767, 1937
- Marble, A., and G.F. Cahill: The chemistry and chemotherapy of Diabetes mellitus.
Ch.C. Thomas Ed., Springfield, 1962
- Martin, D.B., Y.M. Dagenais, E.F. Pfeiffer, and A.E. Renold: Insulin bioassay using adipose tissue. 3. Kongr. Intern. Diab. Vereinigg., Düsseldorf 1958, K. Oberdisse u. K. Jahnke Herausg., Thieme, Stuttgart 1959 p. 592
- Martin, D.B. A.E. Renold, and Y.M. Dagenais: An assay for IIA using rat adipose tissue.
Lancet II, 76, 1958
- Maske, H.: Interaction between insulin and zinc in the islets of Langerhans.
Diabetes 6, 335, 1957
- Maske, H.: Role of zinc in insulin secretion.
In: Diabetes (R.H. Williams Ed.), P.B. Hoeber, N. York 1960, p. 46

- Melani, F., H. Ditschuneit, H.H. Ditschuneit, A. Mucci und E.F. Pfeiffer: Immunologische Bestimmung von Insulin im Blut mit Hilfe von Insulinantikörpern und Jod¹³¹-markiertem Insulin.
10. Symp. Dtsch. Ges. Endokrin., Wien 1963
in: E. Klein: Schilddrüsenhormone und Körperperipherie.
Springer, Berl.-Gött.-Heidelbg., 1964, S. 252
- Metz, R.: The effect of blood glucose concentration on insulin output.
Diabetes 9, 89, 1960
- Mortimer, G.E., and F. Tietze: Studies on the fate of insulin-I¹³¹ in the perfused rat liver.
Metabolism 8, 479, 1959
- Müller-Ruchholtz, W., H. Ditschuneit, W. Dettwyler, W. Böhm, H. Friedrich, E. Ohebschalon, R. Petzoldt, A. Sartory und E.F. Pfeiffer: Direct measurements of insulin secretion in dogs following various types of insulin stimulation.
Acta Endocrinol. (Kobh.)
Suppl. 67, 171, 1962
- Petzoldt, R.: Inauguraldissertation der Medizinischen Fakultät der Univ. Frankfurt/Main, 1964
- Pfeiffer, E.F.: Grundlagen und Perspektiven der oralen Diabetestherapie mit Sulfonylharnstoffen.
4. Kongr. Intern. Diab. Vereinigg.,
Ed. Médecine et Hygiène Genève, 1961
Vol. 1, p. 671
- Pfeiffer, E.F.: Dynamik der Insulinsekretion.
1. Symp. Dtsch. Diab. Kom., Düsseldorf 1962
K. Oberdisse u. K. Jahnke Herausg.,
Thieme, Stuttgart 1963, S. 18
- Pfeiffer, E.F., H. Ditschuneit und R. Ziegler: Untersuchungen zur Pathogenese des menschlichen Altersdiabetes: Die Dynamik der Insulinsekretion des Stoffwechselgesunden und des Altersdiabetikers.
7. Symp. Dtsch. Ges. Endokrin., 1960,
Springer, Berl.-Gött.-Heidelbg., 1961-a
S. 206
- Pfeiffer, E.F., H. Ditschuneit und R. Ziegler: IV. Mitteilung: Die Dynamik der Insulinsekretion des Stoffwechselgesunden und des Altersdiabetikers nach wiederholter Belastung mit Glucose, Sulfonylharnstoffen und menschlichem Wachstumshormon, ein Beitrag zur Pathogenese des menschlichen Altersdiabetes.
Klin. Wschr. 39, 415, 1961-b

- Pfeiffer, E.F., M. Pfeiffer, H. Ditschuneit und Chang-Su Ahn: Clinical and experimental studies following tolbutamide and methexamide administration.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 82, 479, 1959-a
- Pfeiffer, E.F., M. Pfeiffer, H. Ditschuneit und Chang-Su Ahn: Über die Bestimmung von Insulin im Blute am epididymalen Fettanhang der Ratte mit Hilfe markierter Glucose. II. Mitteilung: Experimentelle und klinische Erfahrungen.
Klin. Wschr. 37, 1239, 1959-b
- Pfeiffer, E.F., A.E. Renold, D.B. Martin, Y.M. Dagenais, J.W. Meakin, D.H. Nelson, G. Shoemaker, and G.W. Thorn: Untersuchungen über die Rolle des Pankreas im Wirkungsmechanismus blutzuckersenkender Sulfonylharnstoffe. 3. Kongr. Intern. Diab. Vereinig., Düsseldorf 1958, K. Oberdisse u. K. Jahnke Herausg., Thieme, Stuttgart, 1959-c, S. 298
- Pfeiffer, E.F., H. Steigerwald, W. Sandritter, A. Bänder, A. Mayer, U. Becker und K. Retiene: Vergleichende Untersuchungen von Morphologie und Hormongehalt des Kälberpankreas nach Sulfonylharnstoffen (D 860).
Dtsch. Med. Wschr. 82, 1568, 1957
- Pozza, G., G. Galansino, H. Hoffeld, and P.P. Foà: Stimulation of insulin output by monosaccharides and monosaccharide derivatives.
Am J. Physiol. 192, 497, 1958
- Randle, P.J.: Assay of plasma insulin activity by the rat-diaphragm method.
Brit. M. J. 1, 1237, 1954
- Renold, A.E., D.B. Martin, Y.M. Dagenais, J. Steinke, R.J. Nickerson, and M.C. Sheps: Measurement of small quantities of insulin-like-activity using rat adipose tissue. I. A proposed procedure.
J. Clin. Invest. 39, 1487, 1960
- Saure, E.: Insulinaktivitäten im Plasma von Hunden nach Pankreatektomie.
Inaug. Diss., Frankfurt/Main, 1963
- Schöffling, K., A. Sirek, H. Ditschuneit, R. Petzoldt, J. Beyer, O.V. Sirek, and E.F. Pfeiffer: Insulin-like-activity in Houssay-dogs. Diabetes, 1964 (im Druck)
- Seltzer, H.S.: Quantitative effects of glucose, sulfonylureas, salicylate and indole-3-acetic acid on the secretion of insulin activity into pancreatic venous blood.
J. clin. Invest. 41, 289, 1962

Seltzer, H.S.: persönliche Mitteilung

Sheps, M.C., Nickerson, R.J., Y.M. Dagenais, J. Steinke, D.B. Martin, and A.E. Renold: Measurement of small quantities of insulin-like-activity using rat adipose tissue. II. Evaluation of performance. J.clin. Invest. 39, 1499, 1960

Steinke, J. A. Sirek, V. Lauris, F.D.W. Lukens, and A.E. Renold: Measurement of small quantities of insulin-like-activity with rat adipose tissue. III. Persistence of serum-insulin-like-activity after pancreatectomy J. clin. Invest. 41, 1699, 1962

Student, A.: The probable error of the mean. Biometrika (London) 6, 1908

Tomizawa, H.H.: Degradation of insulin. In: Diabetes (R.H. Williams Ed.), P.B. Hoeber, N. York 1960, p. 283

Vallance-Owen, J., and B. Hurlock: Estimation of plasma-insulin by the rat diaphragm method. Lancet 1, 68, 1954

Vallance-Owen, J., and F.D.W. Lukens: Studies on insulin antagonism in plasma. Endocrinology 60, 625, 1957

Vining : (Zit. von Brown, E.M.Jr.) J. Lab. Clin. Med. 34, 1760, 1949

Volk, B.W., and S.S. Lazarus: Effect of insulogenic agents on the pancreatic islets. Diabetes 9, 264, 1960

Williamson, J.R., P.E. Lacy. and J.W. Grisham: Ultra-structural changes in islets of the rat produced by tolbutamide. Diabetes 10, 460, 1961

Wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage. J.R. Geigy A.G., Basel, 1960

Woerner : (Zit. von Brown, E.M.Jr.) Anat. Rec. 71, 33, 1938

Yalow, R.S., and S.A. Berson: Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. J. clin. Invest. 39, 1157, 1960

Yalow, R.S., H. Black, M. Villazon, and S.A. Berson: Comparison of plasma insulin levels following administration of tolbutamide and glucose. Diabetes 9, 356, 1960

Zunz, E. et La Barre, J.: Sur l'augmentation de la teneur en insuline du sang veineux pancréatique après l'hyperglycémie provoquée par injection de glucose. Compt. rend. Soc. biol. 96, 421, 1927

Nachtrag zu den Literaturangaben:

Gjedde, F.: Effect of glucose on the insulin-like activity of serum from v. pancreaticoduodenalis and from a. femoralis in dogs. In: The Structure and Metabolism of the pancreatic Islets, Proc. 3rd. Intern. Symp. Uppsala and Stockholm 1963, S.E. Berlin, H. Knutson Herausg., Pergamon Press Oxford, 1964, S. 469.

=====

Herrn Prof. Dr. E.F. Pfeiffer, Leiter der Abteilung für Klinische Endokrinologie der I. Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt/Main, bin ich für die Überlassung des Themas und die großzügige Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. Dr. W. Müller-Ruchholtz, jetzt Hygiene-Institut der Universität Kiel, für die unermüdliche Hilfe und Anleitung in die experimentelle Arbeitsweise, sowie Herrn Dr. Ditschuneit, I. Medizinische Universitätsklinik Frankfurt/Main, für wertvolle Anregungen und die grosse Hilfe bei der Durchführung der Insulinbestimmungen und der Beurteilung ihrer Ergebnisse.

I. Lebenslauf =====

Als Sohn des Stadtoberinspektors Erwin B ö h m und seiner Ehefrau Marianne, geborene Renner, wurde ich am 4. Februar 1938 in Breslau geboren. Mein Vater fiel im Jahre 1944.

Im Sommer 1946 wurde ich nach der Vertreibung aus Schlesien in Hemmoor (Niedersachsen) eingeschult. Nach 3 Volksschuljahren erfolgte im Frühjahr 1949 meine Aufnahme in die Zweigschule des Stader Athenaeums in Warstade. Im Jahre 1951 siedelten wir nach Bad Homburg v.d.H. um, wo ich von der Quarta bis zur Reifeprüfung im Jahre 1958 die Kaiserin-Friedrich-Schule besuchte.

Im Sommersemester 1958 begann ich das Medizinstudium an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt/Main. Hier bestand ich im Frühjahr 1959 die naturwissenschaftliche und nach dem 5. Semester die Ärztliche Vorprüfung. Während des klinischen Studiums an der Frankfurter Universität arbeitete ich vom 7. bis zum 9. Semester an meiner Dissertation in der Abteilung für Klinische Endokrinologie der I. Medizinischen Universitätsklinik.

Nach dem 11. Semester meldete ich mich zur Ärztlichen Prüfung, die ich am 30. Januar 1964 bestand.

Verzeichnis meiner akademischen Lehrer:

Prof. Dr. D. Stark	Anatomie
" " R. Ortmann	Anatomie
" " H. Frick	Anatomie
" " M. Czerny	Experimentalphysik
" " P. Royen	Anorganische Chemie
" " W. Halbsguth	Botanik
" " K. Greven	Physiologie
" " H. Müser	Physik
" " H. Dänzer	Angewandte Physik
" " Th. Wieland	Organische Chemie
" " W. Ried	Organische Chemie
" " H. Giersberg	Zoologie
" " K. Wezler	Physiologie
" " K. Felix	Physiologische Chemie
" " H. Jantz	Psychiatrie u. Neurologie
" " E. Rausch	Psychologie
" " B. Kummer	Anatomie
" " R. Schneider	Anatomie
" " E. Heinz	Physiologische Chemie
" " L. Růka	Physiologische Chemie
" " R.K. Zahn	Physiologische Chemie
Priv. Doz. Dr. H.J. Hübener	Physiologische Chemie
Prof. Dr. G. Neuroth-Schmitt	Physiologie
" " W. Schroeder	Physiologie
" " W. Rotter	Pathologie
" " W. Krücke	Neuropathologie
" " K. Herzberg	Hygiene und Bakteriologie
Priv. Doz. Dr. O. Schmith	Sozialhygiene
Prof. Dr. H. Betke	Hygiene u. Arbeitsmedizin
" " P. Holtz	Pharmakologie u. Toxikologie
" " E. Westermann	Pharmakologie u. Toxikologie
" " E.F. Pfeiffer	Innere Medizin
" " J. Jürgens	Innere Medizin
" " R. Heintz	Innere Medizin
" " E. Ungeheuer	Chirurgie
" " L. Heller	Geburtshilfe u. Frauenheilk.

Prof. Dr. C. Kulenkampff	Psychiatrie u. Neurologie
" " H.K. Brehm	Geburtshilfe u. Frauenheilk.
" " Dr.Dr. W. Artelt	Geschichte der Medizin
" " " " B. Rajewsky	Biophysik
" " F. Strnad	Röntgendiagnostik
" " W. Hellriegel	Medizinische Strahlenkunde
" " R. Geißendörfer	Chirurgie
" " G. Kahlau	Pathologie
" " H. Lapp	Pathologie
" " F. Hoff	Innere Medizin
" " H. Hildebrand	Innere Medizin
" " K. Schöffling	Innere Medizin
" " J. Zutt	Psychiatrie u. Neurologie
" " R. Thiel	Augenheilkunde
" " H.G. Boennighaus	HNO-Heilkunde
" " W. Amelung	Innere Medizin
Priv.Doiz. Dr. E. Wiedemann	Physikalische Therapie
Prof. Dr. R. Heinecker	Innere Medizin
" " J. Frey	Innere Medizin
" " W. Weber	Chirurgie
" " B. de Rudder	Kinderheilkunde
" " E. Landes	Dermatologie
" " A. Gebauer	Röntgenologie
" " W. Siede	Innere Medizin
" " U. Graff	Chirurgie
" " W. Grüning	Physiologie
" " G. Hauberg	Orthopädie
" " R. Frowein	Psychiatrie u. Neurologie
" " R. Degkwitz	Psychiatrie u. Neurologie
" " H. Zimmermann	Pathologie
" " P. Christ	Innere Medizin
" " O. Käser	Geburtshilfe u. Frauenheilk.
" " W. Lieb	Augenheilkunde
" " J. Otto	Augenheilkunde
" " R. Mittermaier	HNO-Heilkunde

Prof. Dr. F. Herrmann
" " J. Gerchow
" " J. v.Reckow
" " K. Weiße
" " A. Schwenzer
" " K. Luff
" " E. Güntz
" " G. Leonhardi

Dermatologie
Gerichtliche u. soziale Med.
Zahn-, Mund- u. Kieferheilk.
Kinderheilkunde
Geburtshilfe u. Frauenheilk.
Gerichtliche u. soziale Med.
Orthopädie
Dermatologie

Ehrenwörtliche Erklärung
=====

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die in der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

Direkte Messungen der Insulinsekretion
im Pankreasvenenblut von Hunden
nach Stimulierung mit Glucose

in der Abteilung für Klinische Endokrinologie der I. Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt/Main unter Leitung von Herrn Prof. Dr. E.F. Pfeiffer mit Unterstützung durch Herrn Dr.Dr. W. Müller-Ruchholtz sowie Herrn Priv.Do. Dr. H. Ditschuneit ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt/Main, den 5. März 1965

Wolfgang Böhm

